

THÈSE

Pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ PARIS 13 – SORBONNE PARIS CITÉ

Discipline : Biologie (Epidémiologie-Santé Publique)

Présentée et soutenue publiquement le Mardi 6 Septembre 2016 par :

Mélanie DESCHASAUX

Née le 20 juin 1990 à Pontoise

**VITAMINE D: STATUT, POLYMORPHISMES GENETIQUES,
RISQUE DE CANCER ET MODULATION PAR DES FACTEURS INDIVIDUELS**

Thèse dirigée par :

Monsieur le Professeur Serge HERCBERG

Codirection :

Madame le Docteur Mathilde TOUVIER

JURY :

Madame le Docteur Marie-Christine BOUTRON-RUAULT	Rapporteur
Monsieur le Professeur Olivier BRUYÈRE	Rapporteur
Monsieur le Professeur Patrice FARDELLONE	Examineur
Monsieur le Professeur Philippe SAVARIN	Examineur
Monsieur le Professeur Serge HERCBERG	Examineur
Madame le Docteur Mathilde TOUVIER	Examineur

Remerciements

A l'issue de ces trois ans de thèse passés au sein de l'Equipe de Recherche en Epidémiologie Nutritionnelle (EREN), je tiens à remercier tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'aboutissement de ce projet.

Merci au Pr Serge Hercberg pour m'avoir donné l'opportunité de réaliser cette thèse sous sa direction au sein de l'EREN. Un grand merci également pour ses conseils dans l'optique d'une poursuite de carrière dans la recherche académique et pour sa confiance.

Mille mercis au Dr Mathilde Touvier pour son encadrement au quotidien tout au long de cette thèse, pour son soutien, sa gentillesse, sa positivité et sa confiance, pour tous les échanges que nous avons eus, pour avoir fait de cette thèse une expérience sereine, enrichissante et grandissante. En espérant avoir l'opportunité de continuer à faire équipe encore longtemps.

Merci au Dr Marie-Christine Boutron-Ruault et au Pr Olivier Bruyère qui m'ont fait l'honneur d'accepter la charge de rapporteur de cette thèse.

Merci au Pr Patrice Fardellone et au Pr Philippe Savarin d'avoir accepté de faire partie de mon jury de thèse.

Merci au Cancéropôle Ile-de-France et à la Région Ile-de-France pour avoir soutenu ce projet de thèse à travers l'attribution de mon allocation doctorale.

Merci à l'Institut de Recherche en Santé Publique (IRESP) pour avoir permis la mise en place de l'étude cas-témoin nichée « Vitamine D et Cancer » au sein de la cohorte SU.VI.MAX sur laquelle est en grande partie basée cette thèse.

Merci aux partenaires impliqués dans ce projet IRESP « Vitamine D et Cancer » et tout particulièrement merci au Pr Jean-Claude Souberbielle et au Pr Khaled Ezzedine pour leur contribution aux différents travaux menés dans le cadre de cette thèse, en particulier pour leur enthousiasme, leur point de vue et leurs conseils toujours enrichissants. Merci également au Dr Angela Sutton et au Pr Nathalie Charnaux pour avoir conduit les analyses de dosage du statut en vitamine D et de génotypage.

Merci aux partenaires impliqués dans les projets « Metabo-KS » et « Metabo-KP » pour nous avoir ouvert les portes de la métabolomique, discipline passionnante et à fort potentiel pour l'épidémiologie nutritionnelle.

Merci à l'INCa et au réseau NACRe pour m'avoir permis de participer aux travaux d'expertise d'actualisation des données scientifiques sur les relations entre la nutrition et le risque de cancer.

Merci aux volontaires des cohortes SU.VI.MAX et NutriNet-Santé sans qui aucun de ces travaux n'aurait été possible.

Merci aux chercheurs de l'EREN, les Dr Pilar Galan, Benjamin Allès, Valentina Andreeva, Léopold Fézeu, Chantal Julia, Emmanuelle Kesse-Guyot, Caroline Méjean, Sandrine Péneau, Laurent Zelek pour leur sympathie et leurs conseils, et tout particulièrement merci au Dr Paule Latino-Martel pour sa gentillesse et sa précieuse contribution à l'ensemble de mes travaux.

Merci à l'ensemble des membres de l'EREN pour leur gentillesse, leur appui et pour tous les bons moments passés, notamment Nathalie Arnault, Laurent Bourhis, Nathalie Pecollo, Véronique Gourlet, Fabien Szabo, Julien Allègre, Charlie Ménard, Younes Esseddik, Yasmina Chelghoum Cédric Agaesse, Claudia Chahine, Ludivine Ursule, Maria Gomez, Marie Ajahonun et Rose Aris-Verrier. En particulier merci à Jagatjit Mohinder pour ses multiples sauvetages informatiques. Travailler au sein de cette équipe aura été un véritable plaisir.

Merci à tous mes « co-doctorants » pour ces 3 années passées à partager, rire et évoluer ensemble : Moufidath Adjibade, Solia Adriouch, Karen Assmann, Julia Baudry, Marc Bénard, Géraldine Camilleri, Abou Diallo, Pauline Ducrot, Elise Martin, Philippine Fassier, Aurélie Lampuré, Camille Pouchieu et Wendy Si Hassen.

Un grand merci également à mes parents et à ma famille pour avoir toujours formé un environnement stimulant, encourageant et protecteur. Enfin, un grand merci à Pierre, pour tout.

Table des matières

Remerciements.....	1
Table des matières	3
Liste des illustrations.....	6
Liste des tables	7
Liste des abréviations.....	9
Publications et communications	10
I. Publications originales dans des journaux à comité de lecture	10
A) Faisant l’objet du travail de thèse.....	10
B) Autres publications au cours de la thèse	11
II. Publications effectuées dans le cadre de congrès ou séminaires et communications	13
A) Communications orales.....	13
B) Communications affichées (posters)	14
III. Autres publications et communications.....	18
Introduction générale.....	20
I. La vitamine D : une « vitamine-hormone » multiple.....	20
A) Différentes sources de vitamine D.....	20
B) De la vitamine D à la 1,25-dihydroxyvitamine D.....	22
C) Vitamine D et fonctionnement de l’organisme	23
II. La vitamine D : statut, connaissances et enjeux.....	28
A) Scientifiques et grand public : un intérêt fort et croissant pour la vitamine D	28
B) Statut en vitamine D, insuffisance et carence	29
C) Identifier les facteurs influençant le statut en vitamine D	30
D) Identifier les individus à risque d’insuffisance en vitamine D.....	31
E) Statut en vitamine D et seuils de référence pour la PTH.....	31
III. La vitamine D : un rôle dans la prévention des cancers ?	33
A) La prévention des cancers : un enjeu de société	33
B) Rôle de la vitamine D dans la prévention des cancers.....	33
Objectifs du travail de thèse.....	38
A) Partie 1 – Vitamine D : connaissances et statut (aspects descriptifs).....	38
B) Partie 2 – Vitamine D et risque de cancer (aspects étiologiques)	38
Présentation des cohortes SU.VI.MAX et NutriNet-Santé et aspects méthodologiques	39
I. SU.VI.MAX.....	39
A) Présentation de l’étude.....	39
B) Collecte des données	40
C) Etude cas-témoin nichée « vitamine D et cancer »	42
II. NutriNet-Santé.....	44
A) Présentation de l’étude.....	44
B) Collectes des données.....	45
III. Analyses statistiques : aspects communs aux différents travaux	49
A) Seuils cliniques de référence pour la concentration en 25(OH)D.....	49

B) Polymorphismes génétiques.....	49
C) Données alimentaires	49
D) Analyses statistiques	49
Partie 1 – Vitamine D : connaissances et statut (aspects descriptifs)	50
I. Connaissances de la vitamine D	50
A) Population d'étude	50
B) Analyses statistiques	50
C) Résultats.....	51
D) Discussion et mise en regard de la littérature	66
II. Déterminants du statut en vitamine D	70
A) Population d'étude	70
B) Analyses statistiques	70
C) Résultats.....	71
D) Discussion et mise en regard de la littérature	80
III. Score de prédiction d'une insuffisance en vitamine D	83
A) Population d'étude	83
B) Analyses statistiques	83
C) Résultats.....	84
D) Discussion et mise en regard de la littérature	91
IV. Seuils de référence pour la PTH.....	93
A) Population d'étude	93
B) Analyses statistiques	93
C) Résultats.....	93
D) Discussion et mise en regard de la littérature	98
Partie 2 – Vitamine D et risque de cancer (aspects étiologiques).....	102
I. Vitamine D et risque de cancer du sein	102
A) Population d'étude	102
B) Analyses statistiques	102
C) Résultats.....	103
D) Discussion et mise en regard de la littérature	110
II. Vitamine D et risque de cancer de la prostate	113
A) Population d'étude	113
B) Analyses statistiques	113
C) Résultats.....	114
D) Discussion et mise en regard de la littérature	119
III. Vitamine D et risque de cancers liés au tabac.....	122
A) Population d'étude	122
B) Analyses statistiques	122
C) Résultats.....	123
D) Discussion et mise en regard de la littérature	127
Bilan des parties 1 et 2 : forces, limites et résultats clés.....	129
I. Aspects méthodologiques et limites	129

A) Des spécificités liées aux populations d'étude	129
B) Limites liées aux données collectées	131
C) Causalité.....	133
D) Tests multiples	133
II. Résultats clés	135
A) Partie 1 – Vitamine D : connaissances et statut (aspects descriptifs).....	135
B) Partie 2 – Vitamine D et risque de cancer (aspects étiologiques)	136
Autres travaux étiologiques dans le cadre de la thématique nutrition - cancer.....	137
I. Association entre un score reflétant la qualité globale de l'alimentation (FSA-NPS DI) et le risque de cancer du sein (cohorte NutriNet-Santé)	137
II. Apports alimentaires en fer et risque de cancer du sein – modulation par une supplémentation en antioxydants et par l'apport en lipides (cohorte SU.VI.MAX)	138
III. Autres travaux	139
Perspectives de recherche	141
I. Vitamine D et santé : de nombreux points restant à élucider	141
A) Vitamine D, cancer et autres maladies chroniques/états de santé	141
B) Vitamine D : statut, polymorphismes génétiques, apports et supplémentation	142
C) De nouvelles études nécessaires	143
D) Détermination du statut sanguin « optimal » pour la vitamine D	144
II. Perspectives de recherche en épidémiologie nutritionnelle.....	144
A) Epidémiologie nutritionnelle et nouvelles technologies : collecte des données.....	144
B) Vers une épidémiologie nutritionnelle plus mécanistique	145
Conclusion générale	147
Références.....	149
Annexes	165
Résumé – Vitamine D : statut, polymorphismes génétiques, risque de cancer et modulation par des facteurs individuels.....	243
Abstract – Vitamin D: status, genetic polymorphisms, cancer risk and modulation by individual characteristics.....	243

Liste des illustrations

Figure 1 Métabolisme de la vitamine D.....	27
Figure 2 Nombre de résultats par an pour la recherche « vitamin D » [Title/Abstract] dans Pubmed (1922-2016).....	28
Figure 3 Page d'accueil du site de l'étude NutriNet-Santé.....	44
Figure 4 Extrait du questionnaire sociodémographique et mode de vie.....	45
Figure 5 Extrait du questionnaire santé	45
Figure 6 Extrait du questionnaire anthropométrique	46
Figure 7 Extrait du questionnaire activité physique.....	46
Figure 8 Extrait du questionnaire alimentaire.....	47
Figure 9 Courbe ROC pour la détection d'une insuffisance en vitamine D (25(OH)D \leq 20ng/ml) avec le score VDIP, N=1557, cohorte SU.VI.MAX, France	89
Figure 10 Courbe ROC pour la détection d'une insuffisance en vitamine D (25(OH)D \leq 20ng/ml) avec le score VDIP, N=781, cohorte NutriNet-Santé, France.....	90
Figure 11 Distribution de la concentration plasmatique en PTH (a) dans l'échantillon total (N=1824), (b) chez les individus avec une concentration plasmatique en 25(OH)D \geq 20ng/ml (N=770) et (c) chez les sujets avec une concentration plasmatique en 25(OH)D \geq 30ng/ml (N=293), cohorte SU.VI.MAX, France, 1994-2007...	94
Figure 12 Concentration plasmatique en PTH en fonction de la concentration plasmatique en 25(OH)D, N=1824, cohorte SU.VI.MAX, France, 1994-2007	95

Liste des tables

Tableau 1 Composition en vitamine D de quelques aliments	21
Tableau 2 Influence potentielle de différents polymorphismes de gènes impliqués dans le métabolisme de la vitamine D.....	34
Tableau 3 Phototype, classification de Fitzpatrick	41
Tableau 4 Caractéristiques de la population d'étude « Connaissance de la vitamine D », avant et après redressement, cohorte NutriNet-Santé, 2009-2015	51
Tableau 5 Opinion vis-à-vis du statut en vitamine D et statut en vitamine D mesuré, cohorte NutriNet-Santé, France 2009-2015.....	52
Tableau 6 Sources d'information concernant la vitamine D et opinion vis-à-vis du statut en vitamine D en fonction du sexe, de l'âge et du niveau d'étude, cohorte NutriNet-Santé, France 2009-2015	53
Tableau 7 Sources d'information concernant la vitamine D et opinion vis-à-vis du statut en vitamine D en fonction du revenu et de la prise de médicaments ou de compléments alimentaires contenant de la vitamine D, cohorte NutriNet-Santé, France 2009-2015	54
Tableau 8 Connaissances des sources de vitamine D en fonction du sexe, de l'âge et du niveau d'étude, cohorte NutriNet-Santé, France 2009-2015.....	56
Tableau 9 Connaissances des sources de vitamine D en fonction du revenu et de la prise de médicaments ou de compléments alimentaires contenant de la vitamine D, cohorte NutriNet-Santé, France 2009-2015	57
Tableau 10 Croyances vis-à-vis des effets santé de la vitamine D en fonction du sexe, de l'âge et du niveau d'étude, cohorte NutriNet-Santé, France 2009-2015	58
Tableau 11 Croyances vis-à-vis des effets santé de la vitamine D en fonction du revenu et de la prise de médicaments ou de compléments alimentaires contenant de la vitamine D, cohorte NutriNet-Santé, France 2009-2015.....	60
Tableau 12 Connaissances des sources de vitamine D et croyances vis-à-vis des effets santé de la vitamine D en fonction de la source d'information concernant la vitamine D, cohorte NutriNet-Santé, France 2009-2015.....	63
Tableau 13 Caractéristiques de la population d'étude « Déterminants du statut en vitamine D », cohorte SU.VI.MAX, France (N=1828).....	71
Tableau 14 Concentration plasmatique en 25-hydroxyvitamine D (ng/ml) en fonction de facteurs non génétiques, cohorte SU.VI.MAX, France (N=1828)	73
Tableau 15 Concentration plasmatique en 25-hydroxyvitamine D (ng/ml) en fonction de 10 polymorphismes (SNPs) sélectionnés de gènes impliqués dans le métabolisme de la vitamine D et/ou du calcium, cohorte SU.VI.MAX, France (N=1828).....	74
Tableau 16 Associations entre la concentration plasmatique en 25-hydroxyvitamine D (3 classes : carence, ≤ 10 ng/ml / insuffisance, $10 < 25(\text{OH})\text{D} \leq 20$ ng/ml / Référence=statut normal, $25(\text{OH})\text{D} > 20$ ng/ml) et les facteurs non génétiques étudiés, cohorte SU.VI.MAX, France (N=1828)	75
Tableau 17 Associations entre la concentration plasmatique en 25-hydroxyvitamine D (3 classes : carence, ≤ 10 ng/ml / insuffisance, $10 < 25(\text{OH})\text{D} \leq 20$ ng/ml / Référence=statut normal, $25(\text{OH})\text{D} > 20$ ng/ml) et 10 SNPs sélectionnés de gènes impliqués dans le métabolisme de la vitamine D et/ou du calcium, cohorte SU.VI.MAX, France (N=1828).....	77
Tableau 18 Concentration plasmatique en PTH (pg/ml) en fonction de facteurs non génétiques, cohorte SU.VI.MAX, France (N=1828).....	78

Tableau 19 Sensibilité, spécificité, VPP et VPN du score VDIP pour prédire une insuffisance en vitamine D	84
Tableau 20 Associations entre le risque d'insuffisance en vitamine D et des facteurs individuels obtenues à partir de modèles de régression logistique non conditionnelle, cohortes SU.VI.MAX et NutriNet-Santé, France	85
Tableau 21 Calcul du score : points attribués aux caractéristiques individuelles	86
Tableau 22 Proposition de checklist pouvant être utilisée pour collecter les données individuelles nécessaires au calcul du score VDIP	87
Tableau 23 Sensibilité et spécificité de la détection d'une insuffisance en vitamine D (25(OH)D \leq 20ng/ml) pour chaque valeur du score VDIP, N=1557, cohorte SU.VI.MAX, France	88
Tableau 24 Sensibilité et spécificité de la détection d'une insuffisance en vitamine D (25(OH)D \leq 20ng/ml) pour chaque valeur du score VDIP, N=781, cohorte NutriNet-Santé, France	89
Tableau 25 Caractéristiques de la population d'étude, N=1824, cohorte SU.VI.MAX, France, 1994-2007	93
Tableau 26 Concentration plasmatique moyenne en PTH en fonction de la concentration en 25(OH)D, N=1824, cohorte SU.VI.MAX, France, 1994-2007	95
Tableau 27 Percentiles extrêmes de la concentration plasmatique en PTH en fonction du statut en vitamine D, du sexe, de l'âge, du statut pondéral et des apports en calcium, N=1824, cohorte SU.VI.MAX, France, 1994-2007	97
Tableau 28 Caractéristiques à l'inclusion des cas de cancer du sein et de leurs témoins, cohorte SU.VI.MAX, France (1994-2007)	103
Tableau 29 Association entre la concentration plasmatique en 25-hydroxyvitamine D et le risque de cancer du sein, régression logistique multivariée – Interactions avec l'IMC et la consommation d'alcool et analyses stratifiées, cohorte SU.VI.MAX, France (1994-2007)	107
Tableau 30 Associations entre polymorphismes des gènes <i>GC</i> et <i>VDR</i> et risque de cancer du sein, régression logistique multivariée – Interactions avec la concentration plasmatique en 25(OH)D, l'IMC et la consommation d'alcool et analyses stratifiées, cohorte SU.VI.MAX, France (1994-2007)	108
Tableau 31 Caractéristiques à l'inclusion des cas de cancer de la prostate et de leurs témoins, cohorte SU.VI.MAX, France (1994-2007)	114
Tableau 32 Associations entre les concentrations plasmatiques en 25(OH)D et PTH et le risque de cancer de la prostate, régression logistique conditionnelle, cohorte SU.VI.MAX, France (1994-2007)	117
Tableau 33 Associations entre 10 polymorphismes de gènes impliqués dans le métabolisme de la vitamine D et le risque de cancer de la prostate, régression logistique conditionnelle, cohorte SU.VI.MAX, France (1994-2007)	118
Tableau 34 Caractéristiques à l'inclusion des cas de cancers liés au tabac et de leurs témoins, cohorte SU.VI.MAX, France (1994-2007)	123
Tableau 35 Associations entre la concentration plasmatique en 25(OH)D et le risque de cancers liés au tabac au global et en fonction du statut tabagique, régression logistique, cohorte SU.VI.MAX, France (1994-2007)	125
Tableau 36 Associations entre 10 polymorphismes de gènes impliqués dans le métabolisme de la vitamine D et le risque de cancers liés au tabac, régression logistique, cohorte SU.VI.MAX, France (1994-2007)	126

Liste des abréviations

1,25(OH)₂D : 1,25-dihydroxyvitamine D

25(OH)D : 25-hydroxyvitamine D

Anses : Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail

AUC : aire sous la courbe ROC

CaSR : calcium-sensing receptor

CIRC (IARC) : Centre International de Recherche sur le Cancer (International Agency for Research on Cancer)

ENNS : Etude Nationale Nutrition Santé

HT : génotype hétérozygote

IC95% : intervalle de confiance à 95%

IMC : indice de masse corporelle

INCa : Institut National du Cancer

INCA2 : Etude individuelle nationale des consommations alimentaires

IOM : US Institute of Medicine

MAF : minor allele frequency

MT : génotype homozygote « muté »

OMS (WHO) : Organisation Mondiale de la Santé (World Health Organization)

OR : odds ratio

PTH : hormone parathyroïdienne (parathormone)

Q : quartile

ROC : receiver operating characteristic

SNP : single nucleotide polymorphism (polymorphisme nucléotidique)

SU.VI.MAX : SUPplémentation en VItamines et Minéraux AntioXydants

THM : traitement hormonal de la ménopause

UV : rayonnement ultraviolet

VDBP : vitamin D binding protein (protéine de liaison à la vitamine D)

VDR : vitamin D receptor (récepteur à la vitamine D)

VPN : valeur prédictive négative

VPP : valeur prédictive positive

WCRF/AICR : World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research

WT : génotype homozygote « non muté » (wild type)

Publications et communications

I. Publications originales dans des journaux à comité de lecture

A) Faisant l'objet du travail de thèse

1. **Deschasaux M**, Souberbielle JC, Latino-Martel P, Sutton A, Charnaux N, Druesne-Pecollo N, Galan P, Hercberg S, Le Clerc S, Kesse-Guyot E, Ezzedine K, Touvier M. Weight status and alcohol intake modify the relationship between vitamin D and breast cancer risk. **J Nutr.** 2016 Mar;**146(3):576-85.**
2. **Deschasaux M**, Souberbielle JC, Andreeva VA, Sutton A, Charnaux N, Kesse-Guyot E, Latino-Martel P, Druesne-Pecollo N, Szabo de Edelenyi F, Galan P, Hercberg S, Ezzedine K*, Touvier M* (*equally contributed). Quick and easy screening for vitamin D insufficiency in adults: a scoring system to be implemented in daily clinical practice. **Medicine (Baltimore).** 2016 Feb;**95(7):e2783.**
3. **Deschasaux M**, Souberbielle JC, Latino-Martel P, Sutton A, Charnaux N, Druesne-Pecollo N, Galan P, Hercberg S, Le Clerc S, Kesse-Guyot E, Ezzedine K, Touvier M. A prospective study of plasma 25-hydroxyvitamin D and parathyroid hormone concentrations and prostate cancer risk. **Br J Nutr.** 2016 Jan;**115(2):305-314.**
4. **Deschasaux M**, Souberbielle JC, Latino-Martel P, Sutton A, Charnaux N, Druesne-Pecollo N, Galan P, Hercberg S, Le Clerc S, Kesse-Guyot E, Ezzedine K, Touvier M. Prospective associations between vitamin D status, vitamin D-related gene polymorphisms and risk of tobacco-related cancers. **Am J Clin Nutr.** 2015 Nov;**102(5):1207-15.**
5. Touvier M, **Deschasaux M**, Montourcy M, Sutton A, Charnaux N, Kesse-Guyot E, Assmann KE, Fezeu L, Latino-Martel P, Druesne-Pecollo N, Guinot C, Latreille J, Malvy D, Galan P, Hercberg S, Le Clerc S, Souberbielle JC, Ezzedine K. Determinants of Vitamin D Status in Caucasian Adults: Influence of Sun Exposure, Dietary Intake, Sociodemographic, Lifestyle, Anthropometric, and Genetic Factors. **J Invest Dermatol.** 2015 Feb;**135(2):378-88.**
6. Touvier M, **Deschasaux M**, Montourcy M, Sutton A, Charnaux N, Kesse-Guyot E, Fezeu LK, Latino-Martel P, Druesne-Pecollo N, Malvy D, Galan P, Hercberg S, Ezzedine K, Souberbielle JC. Interpretation of plasma PTH concentrations according to 25OHD status, gender, age, weight status, and calcium intake: importance of the reference values. **J Clin Endocrinol Metab.** 2014 Apr;**99(4):1196-203.**

Pour information, publications soumises :

7. **Deschasaux M**, Souberbielle JC, Partula V, Lecuyer L, Gonzalez R, Srour B, Guinot C, Malvy D, Latino-Martel P, Druesne-Pecollo N, Galan P, Hercberg S, Kesse-Guyot E, Fassier P, Ezzedine K*, Touvier M* (*equally contributed). What do people know and believe about vitamin D: results from 60,000 French adults.
8. **Deschasaux M***, Diallo A*, Partula V, Latino-Martel P, Hercberg S, Galan P, Fassier P, Guéraud F, Pierre FH, Touvier M (*equally contributed). Dietary iron and breast cancer risk – modulation by an antioxidant supplementation in the SU.VI.MAX randomized controlled trial.
9. **Deschasaux M**, Julia C, Kesse-Guyot E, Gourlet V, Lécuyer L, Méjean C, Ducrot P, Péneau S, Latino-Martel P, Fezeu L, Fassier P, Hercberg S, Touvier M. Prospective association between an

individual dietary index based on the British Food Standard Agency nutrient profiling system (FSA-NPS DI) and breast cancer risk: results from the NutriNet-Santé study.

B) Autres publications au cours de la thèse

10. Fassier P, Zelek L, Partula V, Srour B, Bachmann P, Touillaud M, Druesne-Pecollo N, Galan P, Cohen P, Hoarau H, Latino-Martel P, Menai M, Oppert JM, Hercberg S, **Deschasaux M**, Touvier M. Variations of physical activity and sedentary behavior before and after cancer diagnosis: results from the prospective NutriNet-Santé cohort. **Medicine (Baltimore)**. **In press**
11. Collin C, Assmann KE, **Deschasaux M**, Andreeva VA, Lemogne C, Charnaux N, Sutton A, Hercberg S, Galan P, Touvier M, Kesse-Guyot E. Plasma vitamin D status and recurrent depressive symptoms in the French SU.VI.MAX cohort. **Eur J Nutr**. **2016**.
12. Allen NE, Travis RC, Appleby PN, Albanes D, Barnett MJ, Black A, Bueno-de-Mesquita HB, **Deschasaux M**, Galan P, Goodman GE, Goodman PJ, Gunter MJ, Heliövaara M, Helzlsouer KJ, Henderson BE, Hercberg S, Knekt P, Kolonel LN, Lasheras C, Linseisen J, Metter EJ, Neuhauser ML, Olsen A, Pala V, Platz EA, Rissanen H, Reid ME, Schenk JM, Stampfer MJ, Stattin P, Tangen CM, Touvier M, Trichopoulou A, van den Brandt PA, Key TJ; Endogenous Hormones, Nutritional Biomarkers and Prostate Cancer Collaborative Group. Selenium and Prostate Cancer: Analysis of Individual Participant Data From Fifteen Prospective Studies. **J Natl Cancer Inst**. **2016 Jul 6;108(11)**.
13. Diallo A, **Deschasaux M**, Galan P, Hercberg S, Zelek L, Latino-Martel P, Touvier M. Associations between fruit, vegetable, and legume intake and prostate cancer risk: results from the prospective SU.VI.MAX cohort. **Br J Nutr**. **2016 May;115(9):1579-85**.
14. Travis RC, Appleby PN, Martin RM, Holly JMP, Albanes D, Black A, Bueno-de-Mesquita HB, Chan JM, Chen C, Chirlaque MD, Cook MB, **Deschasaux M**, Donovan JL, Ferrucci L, Galan P, Giles GG, Giovannucci E, Gunter MJ, Habel LA, Hamdy FC, Helzlsouer K, Hercberg S, Hoover RN, AMJLJanssen J, Kaaks R, Kubo T, Le Marchand L, Metter EJ, Mikami K, Morris JK, Neal DE, Neuhauser ML, Ozasa K, Palli D, Platz EA, Pollak M, Price AJ, Roobol MJ, Schaefer C, Schenk JM, Severi G, Stampfer MJ, Stattin P, Tamakoshi A, Tangen CM, Touvier M, Trichopoulos D, Wald NJ, Weiss NS, Zeigler RG, Key TJ* and Allen NE* on behalf of the Endogenous Hormones, Nutritional Biomarkers and Prostate Cancer Collaborative Group (*equally contributed). A meta-analysis of individual participant data reveals an association between circulating levels of IGF-I and prostate cancer risk. **Cancer Res**. **2016 Apr;76(8):2288-300**.
15. Adriouch S, Julia C, Kesse-Guyot E, Méjean C, Ducrot P, Péneau S, Donnenfeld M, **Deschasaux M**, Menaï M, Hercberg S, Touvier M*, Fezeu LK* (*equally contributed). Prospective association between an individual dietary index based on the British Food Standard Agency nutrient profiling system and cardiovascular disease risk. **Eur J Prev Cardiol**. **2016**.
16. Graffouillère L, **Deschasaux M**, Mariotti F, Neufcourt L, Shivappa N, Hébert JR, Wirth MD, Latino-Martel P, Hercberg S, Galan P, Julia C, Kesse-Guyot E, Touvier M. The Dietary Inflammatory Index (DII) is associated with prostate cancer risk in French middle-aged adults in a prospective study. **J Nutr**. **2016 Apr;146(4):785-91**.
17. Graffouillère L, **Deschasaux M**, Mariotti F, Neufcourt L, Shivappa N, Hébert JR, Wirth MD, Latino-Martel P, Hercberg S, Galan P, Julia C, Kesse-Guyot E, Touvier M. Prospective association between the Dietary Inflammatory Index and mortality – modulation by an

antioxidant supplementation in the SU.VI.MAX cohort study. **Am J Clin Nutr.** 2016 Mar;**103(3):878-85.**

18. Latino-Martel P, Cottet V, Druésne-Pecollo N, Pierre F, Touillaud M, Touvier M, Vasson MP, **Deschasaux M**, Le Merdy J, Barrandon E, Ancellin R. Alcoholic beverages, obesity, physical activity and other nutritional factors, and cancer risk: a review of the evidence. **Crit Rev Oncol Hematol.** 2016 Mar;**99:308-23.**
19. Donnenfeld M, Julia C, Kesse-Guyot E, Méjean C, Ducrot P, Péneau S, **Deschasaux M**, Latino-Martel P, Fezeu L, Hercberg S, Touvier M. Prospective association between cancer risk and an individual dietary index based on the British Food Standard Agency nutrient profiling system. **Br J Nutr.** 2015 Nov;**114(10):1702-10.**
20. Donnenfeld M, **Deschasaux M**, Latino-Martel P, Galan P, Hercberg S, Ezzedine K, Touvier M. Prospective association between dietary folate intake and skin cancer risk: results from the Supplémentation en Vitamines et Minéraux Antioxydants cohort. **Am J Clin Nutr.** 2015 Aug;**102(2):471-8.**
21. Chhim AS, Fassier P, Latino-Martel P, Druésne-Pecollo N, Zelek L, Duverger L, Hercberg S, Galan P, **Deschasaux M**, Touvier M. Prospective association between alcohol intake and hormone-dependent cancer risk – modulation by dietary fiber intake. **Am J Clin Nutr.** 2015 Jul;**102(1):182-9.**
22. Assmann KE, Touvier M, Andreeva VA, **Deschasaux M**, Constans T, Hercberg S, Galan P, Kesse-Guyot E. Midlife plasma vitamin D and performance in different cognitive domains assessed 13 years later. **Br J Nutr.** 2015 May;**113(10):1628-37.**
23. Pouchieu C, **Deschasaux M**, Hercberg S, Druésne-Pecollo N, Latino-Martel P, Touvier M. Prospective association between red and processed meat intakes and breast cancer risk: modulation by an antioxidant supplementation in the SU.VI.MAX randomized controlled trial. **Int J Epidemiol.** 2014 Oct;**43(5):1583-92.**
24. **Deschasaux M**, Pouchieu C, His M, Hercberg S, Latino-Martel P, Touvier M. Dietary total and insoluble fiber intakes are inversely associated with prostate cancer risk. **J Nutr.** 2014 Apr;**144(4):504-10.**
25. His M, Zelek L, **Deschasaux M**, Pouchieu C, Kesse-Guyot E, Hercberg S, Galan P, Latino-Martel P, Blacher J, Touvier M. Prospective associations between serum biomarkers of lipid metabolism and overall, breast and prostate cancer risk. **Eur J Epidemiol.** 2014 Feb;**29(2):119-32.**
26. **Deschasaux M**, Zelek L, Pouchieu C, His M, Hercberg S, Galan P, Latino-Martel P, Touvier M. Prospective association between dietary fiber intake and breast cancer risk. **PLoS One.** 2013 Nov 14;**8(11):e79718.**

Pour information: publications soumises :

27. Fassier P, Zelek L, Bachmann P, Touillaud M, Druésne-Pecollo N, Hercberg S, Galan P, Cohen P, Hoarau H, Latino-Martel P, **Deschasaux M**, Touvier M. Sociodemographic and economic factors are essential determinants of weight gain between before and after cancer diagnosis: results from the prospective NutriNet-Santé cohort.
28. Fassier P, Zelek L, Lécuyer L, Bachmann P, Touillaud M, Druésne-Pecollo N, Galan P, Cohen P, Hoarau H, Latino-Martel P, Kesse-Guyot E, Baudry J, Hercberg S, **Deschasaux M**, Touvier M.

Modifications in dietary and alcohol intakes between before and after cancer diagnosis: results from the prospective population-based NutriNet-Santé cohort.

29. Adriouch S, Julia C, Kesse-Guyot E, Ducrot P, Péneau S, Méjean C, Assmann KE, **Deschasaux M**, Hercberg S, Touvier M*, Fezeu LK* (*equally contributed). Association between a dietary index based on the British Food Standard Agency nutrient profiling system and cardiovascular disease risk in the NutriNet-Santé cohort.

II. Publications effectuées dans le cadre de congrès ou séminaires et communications

A) Communications orales

Deschasaux M, Souberbielle JC, Latino-Martel P, Sutton A, Charnaux N, Druésne-Pecollo N, Galan P, Hercberg S, Le Clerc S, Kesse-Guyot E, Ezzedine K, Touvier M. **Journées Francophones de Nutrition (Marseille, 9-11 Décembre 2015)** : « Association prospective entre vitamine D (statut plasmatique et polymorphismes génétiques) et risque de cancers liés au tabac »

Deschasaux M, Souberbielle JC, Latino-Martel P, Sutton A, Charnaux N, Druésne-Pecollo N, Galan P, Hercberg S, Le Clerc S, Kesse-Guyot E, Ezzedine K, Touvier M. **Journée annuelle des doctorants du CRESS, UMR U1153 Inserm/U1125 Inra/Cnam/Paris 5, 7 et 13 (Paris, Décembre 2015)** : « Prospective associations between vitamin D status, vitamin D-related gene polymorphisms and risk of tobacco-related cancers. »

Deschasaux M*, Touvier M*, Montourcy M, Sutton A, Charnaux N, Kesse-Guyot E, Latino-Martel P, Druésne-Pecollo N, Guinot C, Latreille J, Malvy D, Galan P, Hercberg S, Le Clerc S, Souberbielle JC, Ezzedine K (*equally contributed). **12th European Nutrition Conference, FENS (Berlin, 20-23 Octobre 2015)**: “Screening of subjects at risk of severe vitamin D deficiency: a clustering approach”. Abstract in *Ann Nutr Metab 2015;67(suppl 1):1–601*.

Deschasaux M, Graffouillère L, Mariotti F, Neufcourt L, Shivappa N, Hébert JR, Wirth MD, Latino-Martel P, Hercberg S, Galan P, Julia C, Kesse-Guyot E, Touvier M. **Colloque NACRe « Nutrition, microbiote, métabolisme et cancer » (Paris, 15-16 Octobre 2015)** : « Association entre un score mesurant le potentiel pro/anti-inflammatoire de l'alimentation (le DII) et l'incidence de cancer et la mortalité dans l'essai SU.VI.MAX »

Prix de la meilleure communication orale

Deschasaux M, Chhim AS, Fassier P, Latino-Martel P, Druésne-Pecollo N, Zelek L, Duverger L, Hercberg S, Galan P, Touvier M. **Colloque NACRe « Nutrition, microbiote, métabolisme et cancer » (Paris, 15-16 Octobre 2015)** : « Etude prospective des liens entre consommation d'alcool et risque de cancers hormono-dépendants : modulation par l'apport en fibres alimentaires »

Deschasaux M, Touvier M, Montourcy M, Sutton A, Charnaux N, Kesse-Guyot E, Assmann K, Fezeu L, Latino-Martel P, Druésne-Pecollo N, Guinot C, Latreille J, Malvy D, Galan P, Hercberg S, Le Clerc S, Souberbielle JC, Ezzedine K. **Journée NACRe « Partenariat de recherche nutrition et cancer » (Paris, 25 mars 2015)** : « Statut en vitamine D et risque de cancer - Modulation par des facteurs alimentaires, environnementaux, biologiques, anthropométriques et génétiques »

Deschasaux M, Touvier M, Montourcy M, Sutton A, Charnaux N, Kesse-Guyot E, Assmann K, Fezeu L, Latino-Martel P, Druésne-Pecollo N, Guinot C, Latreille J, Malvy D, Galan P, Hercberg S, Le Clerc S, Souberbielle JC, Ezzedine K. **Journées Francophones de Nutrition (Bruxelles, 10-12 Décembre**

2014) : « Importance des valeurs de référence dans l'interprétation des concentrations plasmatiques en PTH : Influence du statut en vitamine D, du sexe, de l'âge, du statut pondéral et des apports en calcium ». Abstract in *Nutrition clinique et métabolisme* 28 (2014) S29-S65

Touvier M, Deschasaux M, Montourcy M, Sutton A, Charnaux N, Kesse-Guyot E, Assmann K, Fezeu L, Latino-Martel P, Druésne-Pecollo N, Guinot C, Latreille J, Malvy D, Galan P, Hercberg S, Le Clerc S, Souberbielle JC, Ezzedine K. **Séminaire de clôture de l'AAP IReSP 2011 (Paris, 2 octobre 2014)** : « Vitamine D & Cancer : Apport, statut et polymorphismes – modulation par des facteurs alimentaires, environnementaux, biologiques, anthropométriques et génétiques »

Deschasaux M, Souberbielle JC, Latino-Martel P, Sutton A, Charnaux N, Druésne-Pecollo N, Galan P, Hercberg S, Le Clerc S, Kesse-Guyot E, Ezzedine K, Touvier M. **Séminaire mensuel, UMR U1153 Inserm/U1125 Inra/Cnam/Paris 13 (Bobigny, Mai 2015)** : « Associations prospectives entre vitamine D et cancers liés au tabac »

Deschasaux M, Touvier M, Montourcy M, Sutton A, Charnaux N, Kesse-Guyot E, Fezeu L, Latino-Martel P, Druésne-Pecollo N, Malvy D, Galan P, Hercberg S, Le Clerc S, Souberbielle JC, Ezzedine K. **Séminaire mensuel, UMR U1153 Inserm/U1125 Inra/Cnam/Paris 13 (Bobigny, Novembre 2014)** : « Valeurs de référence et interprétation des concentrations plasmatiques en PTH : Influence du statut en vitamine D, du sexe, de l'âge, du statut pondéral et des apports en calcium »

Deschasaux M, Touvier M, Montourcy M, Sutton A, Charnaux N, Kesse-Guyot E, Assmann K, Fezeu L, Latino-Martel P, Druésne-Pecollo N, Guinot C, Latreille J, Malvy D, Galan P, Hercberg S, Le Clerc S, Souberbielle JC, Ezzedine K. **Séminaire mensuel, UMR U1153 Inserm/U1125 Inra/Cnam/Paris 13 (Bobigny, Novembre 2014)** : « Déterminants du statut en vitamine D : Influence du phototype, de l'exposition solaire, des apports alimentaires, et de facteurs sociodémographiques, de mode de vie, anthropométriques et génétiques »

Deschasaux M, Souberbielle JC, Latino-Martel P, Sutton A, Charnaux N, Druésne-Pecollo N, Galan P, Hercberg S, Le Clerc S, Kesse-Guyot E, Ezzedine K, Touvier M. **Séminaire mensuel, UMR U1153 Inserm/U1125 Inra/Cnam/Paris 13 (Bobigny, Septembre 2014)** : « Divergences des résultats épidémiologiques concernant le lien vitamine D – cancer du sein : modulation par l'IMC et la consommation d'alcool ? Etude sur la cohorte SU.VI.MAX »

Deschasaux M, Souberbielle JC, Latino-Martel P, Sutton A, Charnaux N, Druésne-Pecollo N, Galan P, Hercberg S, Le Clerc S, Kesse-Guyot E, Ezzedine K, Touvier M. **Journée annuelle des doctorants du CRESS, UMR U1153 Inserm/U1125 Inra/Cnam/Paris 5, 7 et 13 (Paris, Septembre 2014)** : « Epidemiological inconsistency of the vitamin D - breast cancer relationship: are BMI and alcohol intake key modulators? Results from the SU.VI.MAX cohort »

Deschasaux M, Pouchieu C, His M, Hercberg S, Latino-Martel P, Touvier M. **Séminaire mensuel, UMR U1153 Inserm/U1125 Inra/Cnam/Paris 13 (Bobigny, Décembre 2013)** : « Etude prospective des liens entre consommation de fibres et risque de cancers du sein et de la prostate »

B) Communications affichées (posters)

Deschasaux M, Souberbielle JC, Latino-Martel P, Sutton A, Charnaux N, Druésne-Pecollo N, Galan P, Hercberg S, Le Clerc S, Kesse-Guyot E, Ezzedine K, Touvier M. **IARC 50th Anniversary Conference (Lyon, 7-10 Juin 2016)**: "Weight status and alcohol intake modify the relationship between vitamin D and breast cancer risk"

Deschasaux M, Souberbielle JC, Latino-Martel P, Sutton A, Charnaux N, Druesne-Pecollo N, Galan P, Hercberg S, Le Clerc S, Kesse-Guyot E, Ezzedine K, Touvier M. **IARC 50th Anniversary Conference (Lyon, 7-10 Juin 2016)**: “A prospective study of plasma 25-hydroxyvitamin D and parathyroid hormone concentrations and prostate cancer risk.”

Deschasaux M, Souberbielle JC, Latino-Martel P, Sutton A, Charnaux N, Druesne-Pecollo N, Galan P, Hercberg S, Le Clerc S, Kesse-Guyot E, Ezzedine K, Touvier M. **IARC 50th Anniversary Conference (Lyon, 7-10 Juin 2016)**: “Prospective associations between vitamin D status, vitamin D-related gene polymorphisms and risk of tobacco-related cancers.”

Deschasaux M*, Diallo A*, Partula V, Latino-Martel P, Hercberg S, Fassier P, Guéraud F, Pierre FH, Touvier M (*equally contributed). **IARC 50th Anniversary Conference (Lyon, 7-10 Juin 2016)**: “Dietary iron and breast cancer risk – modulation by an antioxidant supplementation in the SU.VI.MAX randomized controlled trial.”

Graffouillère L, **Deschasaux M**, Mariotti F, Neufcourt L, Shivappa N, Hébert JR, Wirth MD, Latino-Martel P, Hercberg S, Galan P, Julia C, Kesse-Guyot E, Touvier M. **IARC 50th Anniversary Conference (Lyon, 7-10 Juin 2016)**: “Prospective association between the Dietary Inflammatory Index and cancer risk and mortality”

Donnenfeld M, Julia C, Kesse-Guyot E, Méjean C, Ducrot P, Péneau S, **Deschasaux M**, Latino-Martel P, Fezeu L, Hercberg S, Touvier M. **IARC 50th Anniversary Conference (Lyon, 7-10 Juin 2016)**: “Prospective association between cancer risk and an individual dietary index based on the British Food Standard Agency nutrient profiling system”

Donnenfeld M, **Deschasaux M**, Latino-Martel P, Galan P, Hercberg S, Ezzedine K, Touvier M. **IARC 50th Anniversary Conference (Lyon, 7-10 Juin 2016)**: “Prospective association between dietary folate intake and skin cancer risk: results from the Supplémentation en Vitamines et Minéraux Antioxydants cohort”

Deschasaux M*, Diallo A*, Latino-Martel P, Hercberg S, Pierre FH, Touvier M (*contribution équivalente). **Journées Francophones de Nutrition (Marseille, 9-11 Décembre 2015)** : « Apport alimentaire en fer et risque de cancer du sein : modulation par une supplémentation en antioxydants dans l'étude SU.VI.MAX »

Deschasaux M, Souberbielle JC, Andreeva VA, Sutton A, Charnaux N, Kesse-Guyot E, Latino-Martel P, Druesne-Pecollo N, Szabo de Edelenyi F, Galan P, Hercberg S, Ezzedine K, Touvier M. **Journées Francophones de Nutrition (Marseille, 9-11 Décembre 2015)** : « Détection des individus à risque d'insuffisance en vitamine D : développement et validation d'un score basé sur des caractéristiques individuelles pour une utilisation simple en pratique clinique »

Deschasaux M, Souberbielle JC, Latino-Martel P, Sutton A, Charnaux N, Druesne-Pecollo N, Galan P, Hercberg S, Le Clerc S, Kesse-Guyot E, Ezzedine K, Touvier M. **Journées Francophones de Nutrition (Marseille, 9-11 Décembre 2015)** : « Etude prospective de l'association entre vitamine D et risque de cancer de la prostate »

Donnenfeld M, **Deschasaux M**, Latino-Martel P, Diallo A, Galan P, Hercberg S, Ezzedine K, Touvier M. **Journées Francophones de Nutrition (Marseille, 9-11 Décembre 2015)** : « Association prospective entre apport alimentaire en folates et risque de cancers de la peau »

Donnenfeld M, Julia C, Kesse-Guyot E, Méjean C, Ducrot P, Péneau S, **Deschasaux M**, Latino-Martel P, Fezeu L, Hercberg S, Touvier M. **Journées Francophones de Nutrition (Marseille, 9-11 Décembre 2015)** : « Association entre le risque de cancer et un score individuel de qualité de

l'alimentation basé sur un système de profilage nutritionnel des aliments dans la cohorte SU.VI.MAX »

Graffouillère L, **Deschasaux M**, Mariotti F, Neufcourt L, Shivappa N, Hébert J, Wirth M, Latino-Martel P, Hercberg S, Galan P, Julia C, Kesse-Guyot E, Touvier M. **Journées Francophones de Nutrition (Marseille, 9-11 Décembre 2015)** : « Association entre un score mesurant le potentiel pro/anti-inflammatoire de l'alimentation (le DII) et le risque de cancer : résultats de la cohorte prospective SU.VI.MAX »

Graffouillère L, **Deschasaux M**, Mariotti F, Neufcourt L, Shivappa N, Hébert J, Wirth M, Latino-Martel P, Hercberg S, Galan P, Julia C, Kesse-Guyot E, Touvier M. **Journées Francophones de Nutrition (Marseille, 9-11 Décembre 2015)** : « Association entre un score mesurant le potentiel pro/anti-inflammatoire de l'alimentation (le DII) et la mortalité – modulation par une supplémentation en antioxydants dans l'essai randomisé SU.VI.MAX »

Ancellin R, Cottet V, Druésne-Pecollo N, Pierre F, Touillaud M, **Deschasaux M**, Touvier M, Vasson MP, Latino-Martel P. **Journées Francophones de Nutrition (Marseille, 9-11 Décembre 2015)** : « Rapport INCa 2015 : Nutrition et prévention primaire des cancers : actualisation des données scientifiques »

Donnenfeld M, **Deschasaux M**, Latino-Martel P, Diallo A, Galan P, Hercberg S, Ezzedine K, Touvier M. **12th European Nutrition Conference, FENS (Berlin, 20-23 Octobre 2015)**: “Prospective association between dietary folate intake and skin cancer risk: results from the SU.VI.MAX cohort”. Abstract in *Ann Nutr Metab* 2015;67(suppl 1):1–601.

Deschasaux M, Souberbielle JC, Latino-Martel P, Sutton A, Charnaux N, Druésne-Pecollo N, Galan P, Hercberg S, Le Clerc S, Kesse-Guyot E, Ezzedine K, Touvier M. **12th European Nutrition Conference, FENS (Berlin, 20-23 Octobre 2015)**: “A prospective study of plasma 25-hydroxyvitamin D and parathyroid hormone concentrations and prostate cancer risk within the Topic 4 Nutrition, public health, chronic diseases”. Abstract in *Ann Nutr Metab* 2015;67(suppl 1):1–601.

Deschasaux M, Souberbielle JC, Latino-Martel P, Sutton A, Charnaux N, Druésne-Pecollo N, Galan P, Hercberg S, Le Clerc S, Kesse-Guyot E, Ezzedine K, Touvier M. **12th European Nutrition Conference, FENS (Berlin, 20-23 Octobre 2015)**: “Prospective associations between vitamin D status, vitamin D-related gene polymorphisms and risk of tobacco-related cancers”. Abstract in *Ann Nutr Metab* 2015;67(suppl 1):1–601.

Donnenfeld M, Julia C, Kesse-Guyot E, Méjean C, Ducrot P, Péneau S, **Deschasaux M**, Latino-Martel P, Fezeu L, Hercberg S, Touvier M. **12th European Nutrition Conference, FENS (Berlin, 20-23 Octobre 2015)**: “Prospective association between cancer risk and an individual dietary index based on the British Food Standard Agency nutrient profiling system”. Abstract in *Ann Nutr Metab* 2015;67(suppl 1):1–601.

Deschasaux M, Donnenfeld M, Latino-Martel P, Galan P, Hercberg S, Ezzedine K, Touvier M. **Colloque NACRe « Nutrition, microbiote, métabolisme et cancer » (Paris, 15-16 Octobre 2015)** : « Association prospective entre apport alimentaire en folates et risque de cancers de la peau »

Deschasaux M, Souberbielle JC, Andreeva VA, Sutton A, Charnaux N, Kesse-Guyot E, Latino-Martel P, Druésne-Pecollo N, Szabo de Edelenyi F, Galan P, Hercberg S, Ezzedine K*, Touvier M* (*equally contributed). **Colloque NACRe « Nutrition, microbiote, métabolisme et cancer » (Paris, 15-16**

Octobre 2015) : « Détection de sujets à risque d'insuffisance en vitamine D : développement d'un score basé sur des caractéristiques individuelles pour une utilisation simple en pratique clinique »

Deschasaux M, Souberbielle JC, Latino-Martel P, Sutton A, Charnaux N, Druésne-Pecollo N, Galan P, Hercberg S, Le Clerc S, Kesse-Guyot E, Ezzedine K, Touvier M. **European Congress of Epidemiology, Healthy Living (Maastricht, 25-27 Juin 2015)**: "Epidemiological inconsistency of the vitamin D - breast cancer relationship: are weight status and alcohol intake key modulators?" Abstract in *Eur J Epidemiol* (2015) 30:709–1001.

Deschasaux M, Souberbielle JC, Latino-Martel P, Sutton A, Charnaux N, Druésne-Pecollo N, Galan P, Hercberg S, Le Clerc S, Kesse-Guyot E, Ezzedine K, Touvier M. **European Congress of Epidemiology, Healthy Living (Maastricht, 25-27 Juin 2015)**: "A prospective study of plasma 25OHD and PTH concentrations and prostate cancer risk". Abstract in *Eur J Epidemiol* (2015) 30:709–1001.

Deschasaux M, Touvier M, Montourcy M, Sutton A, Charnaux N, Kesse-Guyot E, Assmann K, Fezeu L, Latino-Martel P, Druésne-Pecollo N, Guinot C, Latreille J, Malvy D, Galan P, Hercberg S, Le Clerc S, Souberbielle JC, Ezzedine K. **Journées Francophones de Nutrition (Bruxelles, 10-12 Décembre 2014)** : « Déterminants du statut en vitamine D : Influence du phototype, de l'exposition solaire, des apports alimentaires, et de facteurs sociodémographiques, de mode de vie, anthropométriques et génétiques ». Abstract in *Nutrition clinique et métabolisme* 28 (2014) S67-S240.

Deschasaux M, Souberbielle JC, Latino-Martel P, Sutton A, Charnaux N, Druésne-Pecollo N, Galan P, Hercberg S, Le Clerc S, Kesse-Guyot E, Ezzedine K, Touvier M. **Journées Francophones de Nutrition (Bruxelles, 10-12 Décembre 2014)** : « Association prospective entre vitamine D (statut plasmatique et polymorphismes génétiques) et risque de cancer du sein : modulation par le statut pondéral et la consommation d'alcool ». Abstract in *Nutrition clinique et métabolisme* 28 (2014) S67-S240.

Deschasaux M, Souberbielle J-C, Latino-Martel P, Sutton A, Charnaux N, Druésne-Pecollo N, Galan P, Hercberg S, Le Clerc S, Kesse-Guyot E, Ezzedine K, Touvier M. **10e Colloque Annuel du Cancéropôle Ile-de-France (Paris, 27 novembre 2014)** : « Statut en vitamine D et risque de cancer : modulation par des facteurs alimentaires, biologiques, anthropométriques et génétiques ».

[!\[\]\(5a132f13505a6571904d622757b7a8f0_img.jpg\) Prix des allocataires du Cancéropôle Ile-de-France 2014](#)

Deschasaux M, Pouchieu C, His M, Hercberg S, Latino-Martel P, Touvier M. **Journée Nutrition et Cancer CLARA-NACRe (Lyon, 18 juin 2014)** : « Etude prospective des liens entre consommation de fibres et risque de cancer de la prostate ».

Deschasaux M, Pouchieu C, His M, Hercberg S, Latino-Martel P, Touvier M. **Journée Nutrition et Cancer CLARA-NACRe (Lyon, 18 juin 2014)** : « Etude prospective des liens entre consommation de fibres et risque de cancer du sein ».

Deschasaux M, Pouchieu C, His M, Hercberg S, Latino-Martel P, Touvier M. **Journées Francophones de Nutrition (Bordeaux, 11-13 Décembre 2013)** : « Etude prospective des liens entre consommation de fibres et risque de cancer de la prostate : modulation par l'IMC, les concentrations d'IGF et la consommation d'alcool ». Abstract in *Nutrition clinique et métabolisme* 27 (2013) S57-S175 / *Cahiers de nutrition et de diététique* 48 (2013) S57-S175.

Deschasaux M, Pouchieu C, His M, Hercberg S, Latino-Martel P, Touvier M. **Journées Francophones de Nutrition (Bordeaux, 11-13 Décembre 2013)** : « Etude prospective des liens entre consommation de fibres et risque de cancer du sein ». Abstract in *Nutrition clinique et métabolisme* 27 (2013) S57-S175 / *Cahiers de nutrition et de diététique* 48 (2013) S57-S175.

Deschasaux M, Souberbielle J-C, Latino-Martel P, Sutton A, Charnaux N, Druesne-Pecollo N, Galan P, Hercberg S, Le Clerc S, Kesse-Guyot E, Ezzedine K, Touvier M. **Journée de l'Ecole Doctorale Galilée (Villetaneuse, 20 mai 2015)** : « Statut en vitamine D et risque de cancer : modulation par des facteurs alimentaires, biologiques, anthropométriques et génétiques ».

Deschasaux M, Souberbielle J-C, Latino-Martel P, Sutton A, Charnaux N, Druesne-Pecollo N, Galan P, Hercberg S, Le Clerc S, Kesse-Guyot E, Ezzedine K, Touvier M. **Journée de Recherche de l'Institut Fédératif de Recherche en Biologie (IFRB), Université Paris 13 (Bobigny, 8 juin 2015)** : « Statut en vitamine D et risque de cancer : modulation par des facteurs alimentaires, biologiques, anthropométriques et génétiques ».

III. Autres publications et communications

- Rapports :
 - Rapport INCa « Nutrition et Prévention primaire des cancers : Actualisation des données scientifiques » (participation à l'extraction bibliographique, à la rédaction et à la relecture pour les parties concernant les fibres alimentaires et les compléments alimentaires à base de β -carotène)
 - Rapport final AAP IReSP « Soutien à des analyses secondaires de données recueillies dans le cadre de grandes études épidémiologiques en cancérologie », Juin 2014 : Vitamine D et cancer : apport, statut et polymorphismes - Interactions avec l'apport calcique, l'exposition solaire, le phototype et l'hormone parathyroïdienne (Deschasaux M, Touvier M)
- Interventions dans le cadre d'une Session de formation – Les états de l'art « Fibres alimentaires », CapAliment (Nantes, 17 novembre 2015)
 - « Fibres alimentaires et cancers » (Deschasaux M, Touvier M, Latino-Martel P)
 - « Réglementation et allégations autorisées concernant les fibres alimentaires » (Deschasaux M, Touvier M)
- Livre « Les aliments fonctionnels dans un système alimentaire sain et durable » (Lavoisier, Tec & Doc) :
 - Chapitre « Fibres, prébiotiques et glucides complexes », sous-chapitre « Effet anti-tumoraux des fibres alimentaires » (Deschasaux M, Touvier M)
- Interview dans le cadre de l'émission « Allo Docteurs », France 5 : reportage portant sur le score de détection d'une insuffisance en vitamine D
http://www.allodocteurs.fr/alimentation/nutriments/vitamines/la-vitamine-d-une-vitamine-miracle_11465.html#paragraphe6
- Intervention dans le cadre d'un programme d'échange (école d'été) entre l'Université Paris 13 et HUST University (Chine) – HUST-Paris 13 University French Summer School of Biology, Research excellence in Oncology and Cardiovascular Diseases (Bobigny, 5 juillet 2016) : « Nutrition and Cancer » (Deschasaux M, Touvier M)

- Publications dans la revue « Pratiques en nutrition » (Elsevier)
 - N°46 (avril-juin 2016) – Latino-Mertal P, Cottet V, Druésne-Pecollo N, Pierre FHF, Touillaud M, Touvier M, Vasson MP, Deschasaux M, Le Merdy J, Ancellin R : « Objectifs nutritionnels prioritaires pour la prévention primaire des cancers »
 - N°45 (avril-juin 2016) – Touvier M, Fassier P, Deschasaux M, Latino-Martel P : « Rôle bénéfique ou délétère des compléments alimentaires en prévention primaire et au cours du cancer »

- Participation au projet « Têtes chercheuses : 16 portraits de femmes qui font avancer la recherche en Île-de-France » réalisé par la région Ile-de-France : ouvrage visant à encourager les jeunes filles à oser les métiers scientifiques
www.iledefrance.fr/sites/default/files/femmes_chercheuses_def-bd.pdf

Introduction générale

I. La vitamine D : une « vitamine-hormone » multiple

Dans ce manuscrit, le terme « vitamine D » sera généralement employé comme terme générique pour faire référence à différentes molécules : les vitamines D₃ (cholécalférol) et D₂ (ergocalciférol) lorsqu'on se réfère à la vitamine D synthétisée ou provenant de l'alimentation, la 25-hydroxyvitamine D (forme circulante) lorsqu'on se réfère au statut en vitamine D, et la 1,25-dihydroxyvitamine (calcitriol, forme active) lorsqu'on se réfère aux effets de la vitamine D.

A) Différentes sources de vitamine D

1. Exposition solaire et synthèse de la vitamine D

La vitamine D₃ est naturellement obtenue par synthèse au niveau de la peau en réponse à une exposition au soleil (on parle aussi de photosynthèse de la vitamine D). Le rayonnement solaire comprend la lumière visible et d'autres types de rayonnements comme les rayonnements ultraviolets (UV). Il existe 3 types de rayonnement UV : UVA (315-400nm), UVB (280-315nm) et UVC (100-280nm). Les rayonnements UV de longueur d'onde <290nm (i.e. UVC et une partie des UVB) sont quasi-intégralement absorbés par l'oxygène et l'ozone présents dans l'atmosphère et n'atteignent donc pas la surface de la Terre [1, 2]. Les UVA peuvent pénétrer en profondeur les couches de la peau alors que les UVB n'atteignent que les couches superficielles [3]. Sous l'action des UVB (290-315nm), le 7-déhydroxycholestérol (présent dans toutes les couches de la peau et en particulier l'épiderme) est converti en pré-vitamine D₃. Cette pré-vitamine D₃ sera ensuite isomérisée en vitamine D₃ sous l'effet de la chaleur [4-6]. La vitamine D₃ ainsi synthétisée se situe en grande majorité au niveau de l'épiderme (hors couche cornée) [6-8]. Dans le cas d'une exposition prolongée au soleil et lorsque la pré-vitamine D₃ atteint sa concentration maximale, des composés inactifs (ex. lumistérol, tachystérol, suprastérols) sont produits à partir de la pré-vitamine D₃ et de la vitamine D₃ afin de prévenir tout risque d'intoxication à la vitamine D par photosynthèse [6].

La synthèse de vitamine D dépend donc d'une part de la quantité de précurseur disponible (7-déhydroxycholestérol) et d'autre part de la capacité des UVB à atteindre les couches de la peau au sein desquelles la vitamine D sera synthétisée. Ainsi, elle sera notamment influencée par [4, 6, 9-11] :

- La latitude, la saison et l'heure de la journée : ceci va en effet déterminer l'angle de zénith du soleil et donc la longueur du chemin à parcourir pour les UVB à travers la couche d'ozone. Par exemple, lorsque la latitude augmente, en hiver et en début de matinée/fin d'après-midi, l'angle de zénith du soleil devient de plus en plus oblique, le chemin à parcourir pour les UVB à travers la couche d'ozone est donc plus long et leur absorption plus importante. Ainsi, pour des individus vivant à des latitudes élevées (comme c'est le cas en Europe notamment), la synthèse de vitamine D sera très faible entre Octobre et Mars [12, 13].
- La pollution : les composés chimiques présents dans une atmosphère polluée (notamment l'ozone) vont augmenter l'absorption des UVB et limiter leur passage.
- La quantité de mélanine présente dans la peau : la mélanine est en effet un filtre UV naturel et absorbe les UVB. Les individus avec une peau foncée auront donc besoin d'une quantité plus

importante d'UVB (intensité et/ou durée) pour permettre la synthèse de vitamine D comparés à des individus avec une peau claire [2, 14, 15].

- Le type de vêtement porté : plus la peau est couverte, moins elle reçoit d'UVB.
- Le fait de rester à l'intérieur des bâtiments : les vitres absorbent les UVB.
- L'âge : quantité réduite de 7-déhydrocholestérol.

2. Alimentation et apports en vitamine D

La vitamine D (vitamines D₂ et D₃) peut également provenir de l'alimentation (**Tableau 1**). Cette molécule liposoluble est en effet retrouvée dans certains aliments, en particulier en présence de matières grasses. Toutefois, peu d'aliments en contiennent de manière significative. La vitamine D₃ (cholécalférol) est synthétisée à partir du 7-déhydrocholestérol sous l'action du rayonnement UV. Celui-ci étant présent dans la peau des animaux, la vitamine D₃ est ainsi retrouvée dans les produits animaux, en particulier les foies de poisson, les huiles de foie de poisson, les poissons gras, les œufs et les produits laitiers. La vitamine D₂ (ergocalciférol) est synthétisée à partir de l'ergostérol sous l'action du rayonnement UV. Elle peut être trouvée dans de rares produits végétaux, notamment certains champignons [16, 17].

Certains aliments font l'objet d'un enrichissement en vitamine D. Les aliments concernés et la proportion d'aliment concernés varient selon les pays. En France, cet enrichissement est effectué sur la base du volontariat et concerne principalement les produits laitiers (ex. lait, yaourts), les beurres et margarines, les céréales du petit-déjeuner, certaines huiles et les formules infantiles [18].

Tableau 1 Composition en vitamine D de quelques aliments

Aliments	Vitamine D en µg/100g ¹
Huile de foie de morue	250
Foie de morue	54.3
Poissons (variable selon le mode de préparation)	
Hareng	13-22
Maquereau	5-12
Saumon	3-9
Thon	2-7
Foie de veau	2.5
Œuf (Jaune d'œuf)	1.5 (3.2)
Huiles combinées enrichies (ex. Isio 4) ⁱ	25
Beurre	1
Champignons de Paris	1.2
Fromage blanc	0.3
Fromage blanc enrichi (ex. Calin) ⁱⁱ	5
Emmental	1.8
Camembert	0.8
Lait demi-écrémé	0.01
Lait enrichi en vitamine D (ex. Lactel) ⁱⁱⁱ	0.8

¹ Sauf indication contraire (notes de bas de page), les compositions présentées dans cette table sont issues de la table de composition du CIQUAL [19].

ⁱ Source : <http://www.nutritionpreventiveisio.fr/Nutriments/Vitamine-D/Vitamine-D-definition-besoins-et-consommation/ISIO4-une-teneur-renforcee-en-vitamine-D3>

ⁱⁱ Source : https://www.yoplait.fr/nos_produits/Calin

ⁱⁱⁱ Source : <http://www.lactel.fr/nos-produits/lactel-vitamine-d/la-gamme-lactel-classique>

En France, l'apport moyen en vitamine D tel qu'estimé par l'étude INCA2 (2006-2007) [20] était de 2,6µg/jour chez les adultes (1,9µg/jour chez les enfants). Les principaux aliments contributeurs à cet apport étaient les poissons (38,3%), les œufs (9,9%) et les fromages (8,2%). Ces apports sont très inférieurs aux apports nutritionnels conseillés en France [21], à savoir 13µg/jour à partir de 4 ans et 20µg/jour à partir de 55 ans chez les femmes et 65 ans chez les hommes (besoin nutritionnel moyen estimé à 10µg/jour pour tous). Ces apports conseillés sont similaires à ceux fournis par l'Institute of Medicine (IOM) aux USA (i.e. 15µg/jour entre 1 et 70 ans, 20µg/jour à partir de 71 ans et 10µg/jour chez les moins d'un an) [22].

La vitamine D peut également être obtenue via la prise de compléments alimentaires ou de médicaments. En particulier, en France, une complémentation en vitamine D des enfants de moins de 5 ans et des femmes enceintes est recommandée [23, 24].

B) De la vitamine D à la 1,25-dihydroxyvitamine D

1. 25-hydroxyvitamine D : forme circulante

La vitamine D₃ produite au niveau de l'épiderme va intégrer la circulation sanguine au niveau du derme en se liant à sa protéine de transport : la vitamin D binding protein (VDBP, aussi connue sous le nom de Gc-globulin). Les vitamines D₂ et D₃ absorbées à partir de l'alimentation sont fixées par les chylomicrons, ce qui leur permet d'intégrer la circulation lymphatique puis la circulation veineuse. Au niveau veineux, vitamines D₂ et D₃ sont fixées par la VDBP [5, 6, 17, 25]. En effet, du fait de son caractère liposoluble, la vitamine D (sous ses différentes formes) doit être fixée à une protéine de transport dans le sang [26]. La VDBP est synthétisée à partir du gène *GC* [27] et est présente dans le plasma à des concentrations très supérieures à celles des différents métabolites de la vitamine D. Ces différents métabolites n'ont d'ailleurs pas tous la même affinité pour cette protéine de transport [28].

La vitamine D va ensuite être rapidement transportée vers le foie où elle va être hydroxylée en 25-hydroxyvitamine D (25(OH)D). Cette hydroxylation dépend d'une enzyme du cytochrome P450 à activité 25-hydroxylase identifiée comme étant celle codée par le gène *CYP2R1*. La transformation de la vitamine D en 25(OH)D va dépendre de la quantité de vitamine D produite ou ingérée [26]. La concentration sanguine en 25(OH)D est ainsi utilisée comme marqueur du statut en vitamine D [26, 29].

La 25(OH)D est la principale forme circulante de la vitamine D. Elle est en effet le principal ligand de la VDBP, du fait de sa forte affinité [28].

Avant d'atteindre le foie, les vitamines D₂ et D₃ peuvent également être transférées dans le tissu adipeux où elles seront stockées [30]. Ce transfert dans le tissu adipeux serait à l'équilibre avec la vitamine D circulante et serait donc fonction de l'absorption et/ou de la synthèse de vitamine D [31]. Ces stocks durables de vitamine D pourront être mobilisés au cours de périodes de moindre disponibilité [30, 31], notamment l'hiver.

2. 1,25-dihydroxyvitamine D : forme active

La 25(OH)D est une forme inactive de la vitamine D et est le substrat pour la formation de la forme biologiquement active de la vitamine D, la 1,25-dihydroxyvitamine D (1,25(OH)₂D) [29]. La 25(OH)D circulante peut ainsi être considérée comme un « pool » de réserve permettant la formation de cette forme active.

La 25(OH)D est convertie en 1,25(OH)₂D par une enzyme du cytochrome P450 à activité 1α-hydroxylase, codée par le gène *CYP27B1*. Cette conversion peut se produire au niveau des reins mais également au niveau d'autres tissus exprimant cette enzyme [32, 33]. La 25(OH)D lipophile

peut être intégrée dans les cellules directement par diffusion passive à travers la membrane. Toutefois, la 25(OH)D étant presque intégralement liée à la VDBP, un système d'endocytose impliquant la mégaline et la cubiline a été proposé. Ce système a été observé au niveau rénal (cellules épithéliales des tubules rénaux) [26, 34] mais également au niveau d'autres tissus comme les cellules épithéliales mammaires [33].

Au niveau rénal, la production de 1,25(OH)₂D est très régulée et intervient dans l'homéostasie calcique (signalisation endocrine, voir I.C)). La production de 1,25(OH)₂D est stimulée par l'hormone parathyroïdienne lorsque le taux de calcium circulant est trop bas et est inhibée notamment par la 1,25(OH)₂D (rétrocontrôle négatif) [6, 26]. Au niveau des tissus extrarénaux, la conversion 25(OH)D-1,25(OH)₂D serait régulée par des paramètres locaux [26].

Une fois formée, la 1,25(OH)₂D se lie à son récepteur, le vitamin D receptor (VDR codé par le gène *VDR*), ce qui va lui permettre d'exercer son activité. La 1,25(OH)₂D est le ligand principal du VDR, avec une affinité 100 fois supérieure à celles de la 25(OH)D [26]. Les vitamines D₂ (ergocalciférol) et D₃ (cholécalfiérol) ne se lient pas au VDR [32].

La vitamine D agit principalement à travers la régulation de l'expression de nombreux gènes. Une fois la 1,25(OH)₂D liée au VDR, ce récepteur nucléaire se lie au retinoid X receptor (RXR codé par le gène *RXR*) formant ainsi un dimère pouvant se fixer à l'ADN au niveau de séquences appelées les éléments de réponse à la vitamine D (VDRE). Ce complexe 1,25(OH)₂D-VDR-RXR lié aux VDREs entraîne le recrutement de différents facteurs de transcription qui vont réguler (positivement ou négativement) l'expression des gènes concernés. On estime que jusqu'à 2000 gènes pourraient ainsi être régulés directement ou indirectement par la vitamine D [6, 32].

La 1,25(OH)₂D régule sa propre dégradation en stimulant l'expression du gène *CYP24A1* codant pour une enzyme à activité 24-hydroxylase conduisant à la production d'un composé inactif (acide calcitroïque) [26].

C) Vitamine D et fonctionnement de l'organisme

La vitamine D a été découverte dans le cadre de recherches visant à déterminer la cause du rachitisme [17]. Des observations au cours des XIX^{ème} et XX^{ème} siècles ont notamment montré que le rachitisme était plus commun en ville (Sniadecki, 1822), était principalement lié à l'exposition solaire (Palm, 1890), pouvait être traité par l'ingestion d'huile de foie de morue (Percival, 1789 ; Mellanby, 1919) ou par l'exposition au soleil ou aux lampes UV (Raczynski, 1913 ; Huldschinsky, 1919 ; Hess et Unger, 1922 ; Chick, 1922). En 1922, la vitamine D a été formellement identifiée par McCollum et al. comme étant le facteur « anti-rachitisme » contenu dans l'huile de foie de morue. Par la suite, l'exposition solaire a été liée à la présence de vitamine D dans les aliments (Hess et Weinstock, 1924 ; Steenbock et Black, 1924) et on a montré que l'administration de foies d'animaux pouvaient traiter le rachitisme (Goldblatt et Soames, 1923). Enfin, la structure de la vitamine D a été déterminée par Windaus et al. (1936, Prix Nobel en 1928) et Askew et al. (1931).

1. 1,25(OH)₂D : une hormone clé de l'homéostasie calcique

La vitamine D joue un rôle majeur dans l'homéostasie du calcium et du phosphore [26, 29, 30]. L'homéostasie calcique est un processus de régulation stricte impliquant les reins, les os, les glandes parathyroïdes et les intestins et permettant d'assurer le maintien de la concentration circulante (extracellulaire) en calcium à 1mmol/l (calcium ionisé), ce qui est essentiel pour le fonctionnement de l'organisme (ex. contraction musculaire, transmission neuronale) [26, 30]. La concentration circulante en calcium est détectée au niveau des glandes parathyroïdes par le

calcium-sensing receptor (CaSR, codé par le gène *CaSR*). Lorsque la concentration en calcium devient trop basse (hypocalcémie), une série de voies métaboliques sont alors activées pour injecter du calcium dans la circulation sanguine : (1) le CaSR va induire la sécrétion de l'hormone parathyroïdienne (ou parathormone, PTH), (2) la PTH va alors stimuler la conversion de 25(OH)D en 1,25(OH)₂D au niveau rénal, (3) la 1,25(OH)₂D produite va stimuler l'absorption de calcium au niveau intestinal, (4) 1,25(OH)₂D et PTH vont également agir au niveau rénal en stimulant la réabsorption de calcium et, au niveau osseux en mobilisant le calcium présent dans la matrice osseuse (via une activation des ostéoclastes). Cette mobilisation de calcium à partir des os nécessite la présence simultanée de 1,25(OH)₂D et PTH. La 1,25(OH)₂D exerce un rétrocontrôle négatif sur la conversion rénale de 25(OH)D en 1,25(OH)₂D et sur la sécrétion de PTH. Lorsque la concentration en calcium est normalisée, la sécrétion de PTH est inhibée. Lorsque la concentration en calcium devient trop haute (hypercalcémie), un autre système impliquant la calcitonine se met en place en arrêtant notamment la mobilisation de calcium provenant du squelette.

Ce rôle joué par la vitamine D dans l'homéostasie calcique passe par une signalisation de type endocrine (la 1,25(OH)₂D produite au niveau des reins est libérée dans la circulation sanguine pour atteindre ses différents organes/cellules cibles extrarénaux), assimilant ainsi la 1,25(OH)₂D à une hormone.

2. 1,25(OH)₂D : signalisation locale au sein de multiples tissus

Comme vu en I.B)2., la conversion de la forme circulante de la vitamine D (25(OH)D) en sa forme active (1,25(OH)₂D) peut se produire au niveau d'autres cellules que les cellules rénales, notamment les cellules du côlon, du cerveau, de la prostate, du sein, du pancréas ou les cellules endothéliales [32]. De même, la présence du VDR a été observée dans de nombreux tissus, autres que ceux impliqués dans la régulation du calcium circulant : par exemple, le tissu adipeux, le cerveau, le sein, le côlon, le poumon, les lymphocytes, les muscles, le pancréas, la prostate ou encore l'estomac [32]. Cette ubiquité du VDR et de la conversion 25(OH)D-1,25(OH)₂D, associée aux nombreux gènes régulés par la 1,25(OH)₂D [6, 32] a conduit à penser qu'outre le rôle majeur joué par la vitamine D dans l'homéostasie calcique, la vitamine D serait également impliquée dans de nombreux processus physiologiques et ainsi pourrait être essentielle au fonctionnement de l'organisme.

L'effet potentiel de la vitamine D au niveau de ces tissus (différents des organes cibles impliqués dans l'homéostasie calcique) ne serait plus lié à la signalisation endocrine impliquée dans l'homéostasie calcique mais ferait intervenir une signalisation locale de type autocrine (signalisation à partir de 1,25(OH)₂D produite au sein même de la cellule) ou paracrine (signalisation à partir de 1,25(OH)₂D produite au sein de cellules adjacentes) [17].

Ainsi, le rôle essentiel joué par la vitamine D dans la prévention du rachitisme chez les enfants et de l'ostéomalacie chez les adultes (pathologies liées à une minéralisation insuffisante de la matrice osseuse conduisant à une déformation du squelette), et plus généralement dans la formation et le maintien d'un squelette sain [17, 26], ne serait pas uniquement lié à son implication dans l'homéostasie calcique et impliquerait également une signalisation locale. En effet, si la stimulation de l'absorption du calcium au niveau intestinal et le rétrocontrôle négatif effectué sur la sécrétion de PTH permettent de limiter en partie la mobilisation du calcium osseux, des expériences ont également montré que la vitamine D était indispensable au développement du cartilage de conjugaison (calcium et 1,25(OH)₂D nécessaires) ainsi qu'au remodelage osseux (formation de l'os via l'action des ostéoblastes et résorption de l'os via l'action des ostéoclastes,

pour lesquelles $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ et VDR sont nécessaires), à travers des mécanismes n'impliquant pas uniquement la régulation du taux de calcium circulant [26, 35].

Plus généralement, la vitamine D contribuerait au fonctionnement normal du système musculo-squelettique et ainsi à la prévention du risque de chute, en particulier chez les personnes âgées. Outre son rôle dans la santé osseuse, elle favoriserait en effet la croissance et le développement des muscles squelettiques et serait ainsi associée à une plus grande force musculaire [6, 26, 36, 37].

Au-delà de son rôle reconnu dans la santé musculo-squelettique, la vitamine D, à travers son implication dans de nombreux processus physiologiques, pourrait jouer un rôle dans différents états de santé :

- Régulation cellulaire [17, 26] : la vitamine D interviendrait pour réguler la prolifération et la croissance des cellules (ex. arrêt du cycle cellulaire, inhibition des facteurs de croissance) mais également pour favoriser la différenciation ou encore l'apoptose. Ces différents mécanismes permettent donc d'assurer un développement normal des différents tissus de l'organisme et, ayant notamment été observés sur des cellules cancéreuses, suggèrent un rôle de la vitamine D dans la prévention des cancers (voir III.).
- Système immunitaire [6, 26, 38, 39] : la vitamine D permettrait de favoriser la différenciation des monocytes en macrophages, des cellules présentatrices d'antigènes, des cellules dendritiques et des lymphocytes, et de favoriser la synthèse de peptides antimicrobiens. Ainsi la vitamine D serait impliquée dans le fonctionnement normal du système immunitaire et permettrait notamment de limiter les infections, les réponses auto-immunes et les processus inflammatoires. La vitamine D pourrait donc jouer un rôle dans la prévention de différentes pathologies auto-immunes (ex. diabète de type I, sclérose en plaques) ou inflammatoires (ex. psoriasis) et dans la prévention des infections (ex. infections respiratoires, infections de la peau).
- Fonctionnement cognitif [6, 26, 40, 41] : la vitamine D favoriserait le développement normal du cerveau et permettrait un bon fonctionnement neuronal au niveau central et périphérique (ex. protection de la structure et de l'intégrité des neurones, prévention de la perte neuronale, augmentation de la vitesse du signal neuronal). Des études ont ainsi suggéré que la vitamine D pourrait favoriser de bonnes performances cognitives et pourrait être impliquée dans la prévention de différentes pathologies comme la maladie de Parkinson, la maladie d'Alzheimer ou encore la schizophrénie.
- Santé cardio-métabolique [6, 26, 42] : la vitamine D serait impliquée notamment dans la régulation de la sécrétion d'insuline, dans la régulation du système rénine-angiotensine, dans le fonctionnement des cellules musculaires cardiaques ou encore dans l'activité des cellules immunitaires au niveau des plaques d'athérosclérose. Ces mécanismes suggèrent donc un rôle potentiellement protecteur vis-à-vis du risque de maladies cardio-métaboliques (ex. diabète de type II, hypertension, maladies cardiovasculaires, syndrome métabolique).

3. La vitamine D : un acteur clé du fonctionnement de l'organisme ?

Les hypothèses mécanistiques suggèrent donc que la vitamine D pourrait être un acteur clé du fonctionnement de l'organisme et de la prévention d'un nombre important de pathologies. Toutefois, les résultats épidémiologiques disponibles à l'heure actuelle n'ont le plus souvent pas permis d'atteindre un consensus sur les relations établies entre la vitamine D et différents états de santé. En effet, des résultats contrastés ont été obtenus pour la plupart de ces états de santé

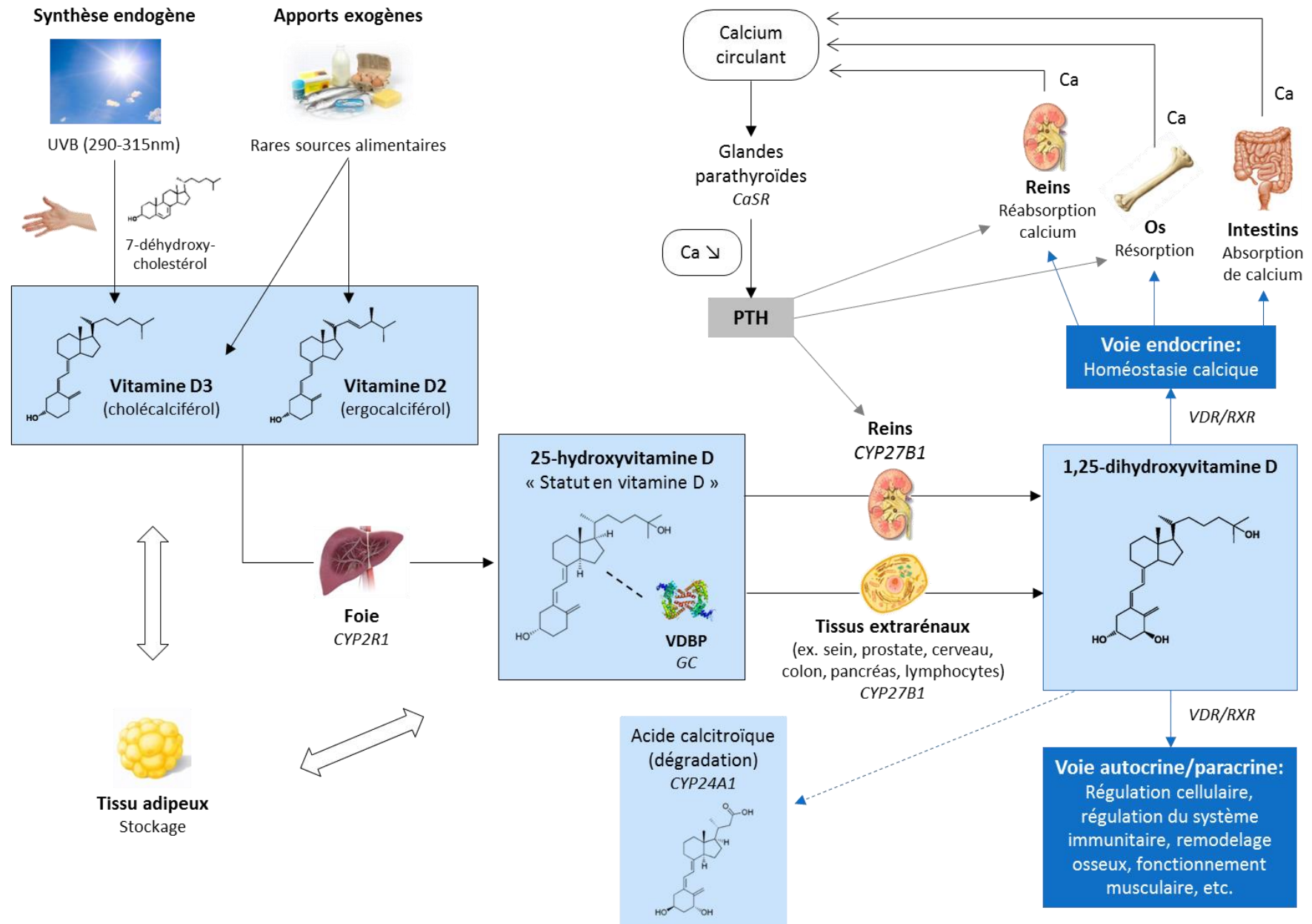
entre les études d'observation (cohortes) et les études d'intervention (essais contrôlés randomisés), ou bien entre études d'observation. Ceci est notamment illustré dans une étude publiée en 2014 par Theodoratou et al. [43], correspondant à une synthèse de l'ensemble des revues systématiques de la littérature et des méta-analyses disponibles (études d'observation et d'intervention) portant sur les relations entre la vitamine D (statut en vitamine D et supplémentation) et différents états de santé. Les auteurs ont ainsi identifié 107 revues systématiques de la littérature et 74 méta-analyses d'études épidémiologiques d'observation (concentration en vitamine D), et 87 méta-analyses d'essais contrôlés randomisés (supplémentation en vitamine D) couvrant jusqu'à 137 issues de santé (ex. cancers, maladies cardiovasculaires, troubles cognitifs, santé osseuse, santé de l'enfant, grossesse, troubles métaboliques et infections) et ont jugé que peu de relations atteignaient un niveau de preuve suffisant en étant soutenues à la fois par des études d'observation et d'intervention.

En Europe, différentes allégations de santé ont été autorisées pour la vitamine D par la Commission [44], reflétant les connaissances pour lesquelles un consensus a été établi sur la base d'expertises collectives. Ces allégations concernent les effets suivants, relatifs à un fonctionnement normal des processus physiologiques plutôt qu'à une réduction de risque de maladies : absorption et métabolisme du calcium et du phosphore, division cellulaire, fonctionnement normal du système immunitaire, maintien du squelette, fonctionnement musculaire normal, dentition normale, diminution du risque de chutes, croissance et développement osseux normaux chez les enfants, réduction de la perte minérale osseuse chez les femmes ménopausées (en association avec le calcium).

En 2011, l'IOM a fourni des recommandations d'apports nutritionnels conseillés pour la vitamine D (et statut en vitamine D correspondant) sur la base des preuves existantes pour la santé osseuse uniquement, jugeant que le niveau de preuve associé aux autres pathologies était insuffisant [22, 45].

Ainsi, à l'heure actuelle, si les éléments à disposition suggèrent le plus souvent que la vitamine D pourrait jouer un rôle dans la réduction de risque de différentes pathologies, il n'en demeure pas moins que, mis à part pour la santé musculo-squelettique, le niveau de preuve associé à la relation entre la vitamine D et la plupart des issues de santé étudiées (en particulier les pathologies) reste insuffisant. Le passage des observations réalisées au niveau du fonctionnement cellulaire ou physiologique à la prévention de diverses pathologies n'est donc pas immédiat et des études additionnelles sont nécessaires pour établir des consensus.

Figure 1 Métabolisme de la vitamine D



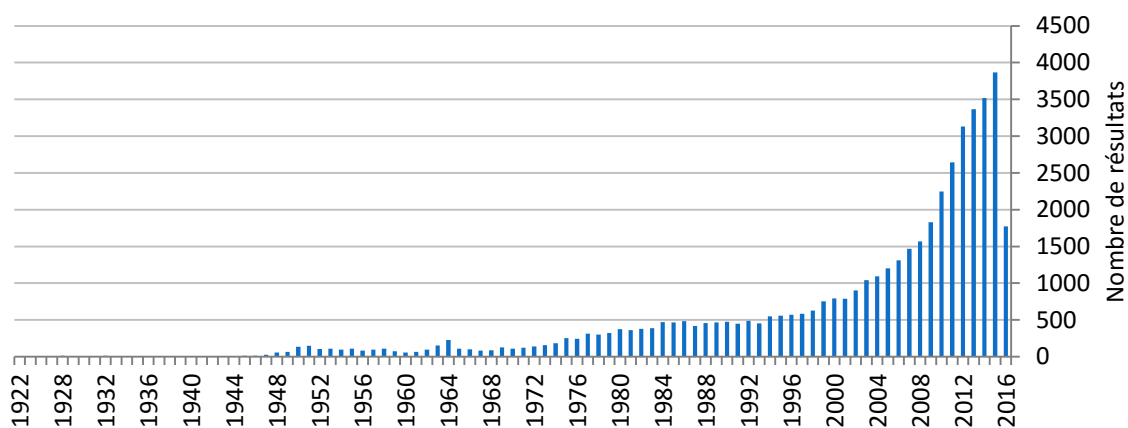
II. La vitamine D : statut, connaissances et enjeux

A) Scientifiques et grand public : un intérêt fort et croissant pour la vitamine D

Récemment, la vitamine D a fait l'objet d'une remarquable attention à la fois de la part de la communauté scientifique et médicale mais également des médias et du public.

En effet, comme évoqué en I.C), si la vitamine D est connue depuis longtemps dans la communauté scientifique pour son rôle dans l'homéostasie calcique et la santé osseuse, la découverte du fait que la grande majorité des cellules et tissus de notre organisme est capable de répondre au signal de la vitamine D a conduit à penser que la vitamine D pourrait également jouer un rôle clé dans de nombreux états de santé. Au cours des dernières décennies, un nombre toujours croissant d'études scientifiques a été conduit sur la vitamine D, avec notamment plus de 30 000 résultats sur Pubmed pour les dix dernières années (**Figure 2**).

Figure 2 Nombre de résultats par an pour la recherche « vitamin D » [Title/Abstract] dans Pubmed (1922-2016)



Un intérêt particulier a été porté aux liens entre la vitamine D et plus d'une centaine d'issues de santé [43]. Si à l'heure actuelle, les issues de santé pour lesquelles un rôle de la vitamine D a été clairement établi restent principalement liées à la santé musculo-squelettique (voir I.C)), Caulfield et al. [46] ont récemment montré que, dans les médias, la vitamine D est le plus souvent traitée comme une « vitamine miracle » avec une promotion de son rôle bénéfique dans de nombreux états de santé, sans tenir compte du niveau de preuve.

Le grand public a donc été exposé à une quantité importante d'information concernant la vitamine D provenant de différentes sources. Ainsi, que sait ou croit savoir le public à propos de la vitamine D ? Ce que les individus connaissent à propos de la vitamine D et la manière dont ils comprennent son rôle pour la santé constituerait une information intéressante pour les médecins et les institutions publiques afin d'améliorer la communication portant sur ce nutriment.

Des études quantitatives et qualitatives précédemment menées dans différents pays (ex. Australie, USA, Pays-Bas), le plus souvent en ciblant des groupes particuliers (ex. personnes âgées, femmes enceintes, étudiants) ont montré que le niveau de savoir lié à la vitamine D était limité [47-64]. A notre connaissance, aucune étude n'a été réalisée en Europe sur un large échantillon issu de la population générale et peu d'études ont investigué si ces connaissances pouvaient être influencées par différentes caractéristiques individuelles.

Un des objectifs de cette thèse était donc d'évaluer les sources d'information et les connaissances liées à la vitamine D (sources, effets santé) dans un large échantillon d'adultes français issus de la population générale, en fonction des caractéristiques sociodémographiques et économiques.

B) Statut en vitamine D, insuffisance et carence

1. Seuils de référence pour un statut « normal » en vitamine D

Les seuils de référence permettant d'évaluer si la concentration mesurée en 25(OH)D peut être considérée ou non comme « normale » ne sont pas encore clairement établis et font l'objet de débat, notamment du fait des paramètres de santé à prendre en compte pour déterminer ces seuils.

Le seuil de concentration en 25(OH)D en-dessous duquel des manifestations cliniques d'une carence en vitamine D peuvent être observées (rachitisme, ostéomalacie) est relativement consensuel et se situerait autour de 10-12ng/ml (avec une notion de carence sévère en-dessous de 5ng/ml) [21, 45, 65].

Au-delà de ce seuil de carence vitaminique, se pose la question des seuils permettant de définir un statut « suffisant » ou « normal ». En 2011, l'IOM a défini des seuils de référence en considérant des concentrations en 25(OH)D permettant de couvrir les besoins en vitamine D pour la population générale afin d'assurer une bonne santé osseuse (normalisation des concentrations en PTH, risque de chute chez les personnes âgées, absorption du calcium). L'IOM a ainsi jugé qu'une concentration en 25(OH)D ≥ 20 ng/ml permettait de couvrir les besoins pour 97,5% de la population et qu'une concentration ≥ 16 ng/ml couvrirait les besoins pour 50% de la population [22, 45].

Cependant, ces valeurs sont débattues par l'Endocrine Society américaine qui considère que le seuil de suffisance/insuffisance devrait être défini à 30ng/ml pour assurer un fonctionnement normal du métabolisme calcique, osseux et musculaire (normalisation des concentrations en PTH, risque de chute chez les personnes âgées, absorption du calcium). Ce seuil permettrait également de réduire le risque d'autres pathologies comme le cancer, les maladies cardiovasculaires ou le diabète. Les recommandations de l'Endocrine Society seraient toutefois plutôt destinées à des populations de patients à risque [45, 66, 67]. Le seuil de 30ng/ml pourrait donc être considéré comme un seuil de « statut optimal ».

Dans les pays développés, avec un mode de vie dans lequel le temps passé en intérieur devient de plus en plus important, l'insuffisance en vitamine D (concentration en 25(OH)D < 20 ng/ml) est devenue un enjeu médical important du fait de sa prévalence relativement élevée : 42,5% en France en 2006 selon l'étude ENNS [68], entre 35 et 70% en Europe [12] et 36% aux USA [6].

2. Conséquences d'un statut élevé en vitamine D

Différentes études ont montré qu'une intoxication aiguë à la vitamine D était peu probable. En effet, l'induction d'une hypercalcémie résultant d'une hypervitaminose D n'est observée que pour des niveaux très élevés de vitamine D ingérée (jusqu'à 10 000UI/jour [22]) ou de concentrations en 25(OH)D (jusqu'à 200ng/ml) [69]. L'apport maximal tolérable pour la vitamine D a ainsi été fixé à 100 μ g/jour (4000UI) par L'Agence européenne de sécurité des aliments (AES/EFSA) et l'IOM [18, 22].

Cependant, la toxicité aiguë n'est pas le seul paramètre à prendre en compte. Les effets d'un statut élevé en vitamine D maintenu sur le long terme doivent également être considérés (aspects chroniques) [16]. Différentes études d'observation ont en effet montré que le risque de différents

événements de santé associé au statut en vitamine D pouvait être modélisé par une « courbe en U », à savoir que des concentrations à la fois faibles et élevées en 25(OH)D pourraient être associées à une augmentation de risque. Cette augmentation de risque associée à un statut élevé en vitamine D a été observée notamment pour la mortalité (NHANES III) [70], les maladies cardiovasculaires (Framingham Offspring Study) [71], ou les cancers (notamment cancer de la prostate et cancer du pancréas) [69, 72]. Certaines études ont également montré que des doses très importantes de supplémentation en vitamine D pouvaient conduire à une augmentation de risque de fractures ou de chutes [69].

Ainsi, les conséquences d'un statut élevé en vitamine D maintenu sur le long terme ne sont pas entièrement connues. Si le seuil limite de référence pour la concentration en 25(OH)D a pu être considéré par certains auteurs comme étant de 60ng/ml (voire 100ng/ml) [5], l'IOM et le Centre International de Recherche sur le Cancer (CIRC/IARC) estiment qu'un statut élevé (seuil d'incertitude pour les effets de la vitamine D) correspond à des concentrations en 25(OH)D supérieures à 50ng/ml et 40ng/ml respectivement [16, 22, 73].

C) Identifier les facteurs influençant le statut en vitamine D

Dans la partie I., nous avons vu que différents facteurs pouvaient influencer le statut en vitamine D, en particulier les facteurs directement liés à sa synthèse (ex. exposition solaire, lieu d'habitation, saison, couleur de la peau, âge) ou à son absorption (ex. apports alimentaires). D'autres facteurs pourraient également influencer le statut en vitamine D, c'est le cas notamment du sexe, du statut pondéral, de facteurs liés au mode de vie comme la consommation d'alcool ou l'activité physique [74-79], ou de facteurs génétiques. En effet, les polymorphismes de gènes impliqués dans le métabolisme de la vitamine D et/ou du calcium comme par exemple les gènes *VDR* (codant pour le récepteur à la vitamine D), *CYP24A1* (codant pour une enzyme de dégradation de la vitamine D), *CaSR* (codant pour le récepteur de détection du calcium circulant), *RXR* (codant pour le rétinoid X receptor formant un dimère avec le récepteur à la vitamine D) ou *GC* (codant pour la protéine de transport de la vitamine D) pourraient influencer la concentration en 25(OH)D [80, 81]. Cependant, il existe peu d'information sur l'association entre ces gènes et le statut en vitamine D [82-85].

Ainsi, si l'influence de certains de ces déterminants du statut en vitamine D est déjà bien connue, des questions subsistent. Par exemple, le niveau optimal d'exposition solaire nécessaire pour influencer positivement le statut en vitamine D n'est pas entièrement déterminé. Or, cette question est cruciale puisqu'une exposition solaire excessive est un facteur de risque majeur pour les cancers de la peau et le vieillissement cutané [86, 87]. D'autre part, on ne sait pas si l'activité physique intervient à part entière ou si son influence vient de l'exposition solaire associée à la pratique d'activités en plein air.

Enfin, l'influence relative de ces différents facteurs pourrait fournir une information importante pour mettre en place des stratégies de santé publique ciblant en priorité les déterminants les plus significatifs et modifiables du statut en vitamine D. A notre connaissance, seule une étude [76] a précédemment évalué l'influence relative sur le statut en vitamine D de l'exposition solaire, du phototype, des apports alimentaires en vitamine D, de l'activité physique, des facteurs anthropométriques et sociodémographiques et des polymorphismes génétiques de manière simultanée sur une même population d'étude. Cependant, cette étude était restreinte à des sujets à risque (femmes ménopausées).

Un des objectifs de cette thèse était donc d'étudier l'influence relative de différents déterminants potentiels du statut en vitamine D dans un large échantillon d'adultes issus de la population générale.

D) Identifier les individus à risque d'insuffisance en vitamine D

Dans les parties I. et II.B), nous avons vu que le fait d'atteindre et de maintenir un statut suffisant en vitamine D à tous les stades de la vie apparaissait comme un enjeu important.

La prévention et le traitement d'une insuffisance en vitamine D fait généralement intervenir un dosage sanguin de la 25(OH)D et/ou une complémentation (compléments alimentaires ou médicaments). Les recommandations existantes ont cependant souligné que ces mesures devraient cibler les individus à risque [88, 89]. En effet, d'une part le dosage de la vitamine D ne serait pas coût-efficace en population générale [88-91] et d'autre part le fait de supplémenter des individus qui ne présenteraient pas d'insuffisance en vitamine D pourrait conduire à des statuts en vitamine D élevés (voire un surdosage) chez ces sujets, dont les conséquences à long terme sont mal connues [16, 22, 73].

Il est donc essentiel d'identifier les individus à risque afin de mieux cibler la prise en charge thérapeutique (dosage/prescriptions de compléments alimentaires ou de médicaments). Des études précédemment menées ont proposé des systèmes de score pour prédire le statut en vitamine D [75, 92-96]. Cependant, ces études étaient principalement conduites sur des échantillons relativement réduits ou des sous-groupes spécifiques de population, incluaient des caractéristiques non accessibles de manière simple en pratique clinique, utilisaient des coefficients complexes ou difficiles à interpréter ou n'avaient pas réalisé de validation dans un échantillon indépendant. Seuls Sohl et al. [94] ont développé et validé un score simple d'utilisation pour prédire une insuffisance en vitamine D. Cependant, cette étude portait sur des sujets âgés et incluait donc des indicateurs de fragilité spécifiques à cette population particulière.

Un des objectifs de cette thèse était donc de développer (et tester dans un échantillon indépendant) un score visant à détecter des individus à risque d'insuffisance en vitamine D au sein d'une population d'adultes d'âge moyen en se basant uniquement sur des caractéristiques individuelles simples et facilement accessibles en pratique clinique.

E) Statut en vitamine D et seuils de référence pour la PTH

Une sécrétion excessive de PTH peut être liée à un dysfonctionnement au niveau des glandes parathyroïdes elles-mêmes (hyperparathyroidisme primaire, PHPT) ou peut être liée à une diminution de la concentration sérique en calcium, ce qui peut être observé dans différentes situations comme lorsque le statut en vitamine D est insuffisant (hyperparathyroidisme secondaire, SHPT) [97]. Dans la plupart des cas, une sécrétion élevée de PTH permet de maintenir une calcémie normale mais elle entraîne aussi un remodelage de l'os, une fragilité osseuse et, chez les personnes âgées conduit à une augmentation du risque de fracture ostéoporotique, principalement au niveau des zones corticales [98]. Des études épidémiologiques prospectives en population générale ont également montré que des niveaux de PTH légèrement élevés étaient associés à une augmentation de l'incidence d'événements cardiovasculaires [99].

Le dosage du taux sanguin en PTH est courant en pratique clinique. Toutefois, les valeurs de référence pour la concentration sanguine en PTH fournies par les fabricants des kits ont

généralement été établies à partir de petits échantillons de sujets apparemment en bonne santé mais faiblement caractérisés.

Par ailleurs, il est établi que les concentrations sanguines en 25(OH)D et en PTH sont inversement corrélées [100] : la concentration en PTH augmente lorsque la concentration en 25(OH)D devient inférieure à un certain seuil [101], et la concentration en PTH diminue lorsque des individus présentant une insuffisance en vitamine D sont supplémentés avec de la vitamine D. Ce phénomène devrait donc être pris en compte pour établir les valeurs de référence pour la PTH. Toutefois, bien que de faibles concentrations sanguines en 25(OH)D soient généralement observées en population générale [102], le statut en vitamine D n'a généralement pas été pris en compte dans l'établissement des valeurs de référence publiées pour les kits actuels [103]. Une proposition a donc été faite d'inclure uniquement des sujets présentant un statut suffisant en vitamine D pour établir les valeurs de référence pour la concentration en PTH [104-106]. En appliquant cette stratégie avec différents kits de dosages, il a été observé que les plus hautes concentrations en PTH mesurées chez des sujets avec un statut suffisant en vitamine D étaient plus basses que la limite proposée par les fabricants des kits. Les différences observées entre ces valeurs hautes et la valeur limite proposée par les fabricants variaient de manière importante entre les différents kits de dosage [104]. Cependant, ces études étaient conduites sur des échantillons relativement restreints.

En outre, la concentration en PTH serait influencée par d'autres facteurs. Par exemple, une augmentation de la concentration en PTH a été observée chez des individus plus âgés [107], chez ceux ayant une couleur de peau plus foncée [108], chez les individus obèses [109] et chez ceux avec de faibles apports en calcium [100]. Ces facteurs n'ont cependant généralement pas été pris en compte dans l'établissement des valeurs de référence.

Pour ces raisons, le Third International Workshop on Asymptomatic Primary Hyperparathyroidism [110] a conclu que de plus amples études étaient nécessaires pour établir des intervalles de référence pour la PTH en utilisant de larges échantillons d'individus présentant un statut suffisant en vitamine D et en conduisant des analyses stratifiées selon différents modificateurs potentiels de la concentration en PTH.

Un des objectifs de cette thèse était donc de proposer des seuils de référence pour la concentration en PTH en prenant en compte le statut en vitamine D et d'autres modificateurs potentiels (âge, sexe, statut pondéral et apports en calcium) dans un large échantillon d'adultes issus de la population générale.

III. La vitamine D : un rôle dans la prévention des cancers ?

A) La prévention des cancers : un enjeu de société

En France, le cancer est la première cause de mortalité précoce : 48,4% des décès avant 65 ans chez les femmes et 37,6% chez les hommes (2011-2013) [111]. En 2015, on estime à 384 442 le nombre de nouveaux cas de cancers (210 882 chez les hommes et 173 560 chez les femmes) et à 149 456 le nombre de décès par cancer. Les principales localisations sont le cancer de la prostate (incidence : 14% ; mortalité : 5,8%), le cancer du sein (incidence : 14,1% ; mortalité : 8%), le cancer du côlon-rectum (incidence : 11,2% ; mortalité : 11,9%) et le cancer du poumon (incidence : 11,8% ; mortalité : 20,4%) [112].

Au niveau mondial le cancer représente en 2012 14,1 millions de nouveaux cas et l'une des premières causes de mortalité avec 8,2 millions de décès [113].

Le cancer est une pathologie lourde engendrant des conséquences importantes pour les personnes ayant ou ayant eu un cancer du fait notamment de traitements plus ou moins invasifs, de la dégradation de la situation professionnelle, du stress, de discriminations ou encore d'invalidités [112].

Le cancer représente donc un poids important pour la société et sa prévention un enjeu majeur de santé publique. Le cancer est une pathologie multifactorielle dont l'apparition résulte d'une altération de l'expression génétique. Cette altération peut être héritée dans son patrimoine génétique (prédisposition) mais peut également être une conséquence de l'interaction de l'individu avec son environnement [114]. Ainsi, la prévention des cancers est envisageable à travers une modification de l'environnement et/ou des comportements. Selon des estimations réalisées par le World Cancer Research Fund (WCRF)/American Institute for Cancer Research (AICR), la part des cancers attribuable à la nutrition (alimentation, activité physique, obésité) serait d'environ 30% (estimations pour les USA et le Royaume-Uni) [115], cette part étant variable selon les localisations de cancer et leur sensibilité aux facteurs nutritionnels. L'intérêt de la nutrition est donc à souligner dans le cadre de la prévention des cancers car c'est un facteur modifiable sur lequel il est possible d'agir.

B) Rôle de la vitamine D dans la prévention des cancers

Différentes observations ont conduit à proposer la vitamine D comme un facteur potentiel de prévention du risque de cancer [116] : lien inverse existant entre le risque de développer un cancer de la peau et le risque de développer d'autres cancers (Peller, 1936), taux de mortalité par cancer moins élevé dans les régions ensoleillées aux USA (Apperly, 1942), gradient pour le taux de mortalité par cancer du côlon aux USA en fonction de la latitude. Cette dernière observation par Garland C et Garland F les a conduits à émettre l'hypothèse que la vitamine D pourrait être un facteur de prévention du cancer (notamment de cancer du côlon) [117] et ainsi être à l'origine des observations précédemment décrites. Par la suite, différentes études seront menées pour étudier l'association potentielle entre la vitamine D (apports, supplémentation puis statut en vitamine D) et le risque de cancer du côlon mais aussi d'autres localisations.

Comme vu en I., de nombreuses cellules de l'organisme possèdent l'équipement nécessaire à la conversion de la vitamine D en sa forme active ($1,25(\text{OH})_2\text{D}$) ainsi que le VDR (ex. cellules du côlon, du sein, de la prostate, du poumon, de l'estomac), permettant ainsi d'émettre l'hypothèse que la vitamine D pourrait jouer un rôle local au niveau de ces cellules, notamment à travers la régulation de gènes. Différentes hypothèses basées sur des études expérimentales mécanistiques suggèrent

que la vitamine D pourrait jouer un rôle dans la prévention de différents cancers, notamment à travers les mécanismes suivants [118, 119] : régulation cellulaire (régulation de la prolifération, de la différenciation, de la croissance, de l'apoptose), régulation de la signalisation des hormones sexuelles (ex. estrogènes, androgènes), propriétés anti-inflammatoires, inhibition de l'invasion des cellules tumorales et des métastases, inhibition de l'angiogenèse, inhibition de la formation de tumeurs chimio-induites.

Par ailleurs, le métabolisme de la vitamine D fait intervenir différents gènes (voir I.) en particulier ceux impliqués dans la signalisation de la 1,25(OH)₂D – *VDR*, codant pour le VDR et *RXR* codant pour le récepteur de l'acide rétinoïque (*RXR*) formant un dimère avec le VDR, le transport – *GC* codant pour la protéine de transport de la vitamine D (*VDBP*), la dégradation – *CYP24A1* codant pour l'enzyme de dégradation 1,25-dihydroxyvitamin D₃ 24-hydroxylase, et la détection de la concentration de calcium circulant – *CaSR* codant pour le récepteur membranaire au calcium au niveau des glandes parathyroïdes. Différents polymorphismes pour ces gènes seraient susceptibles d'avoir une influence sur l'effet potentiel de la vitamine D dans la prévention des cancers (**Tableau 2**) et ainsi d'être impliqués dans l'étiologie des cancers [118].

Tableau 2 Influence potentielle de différents polymorphismes de gènes impliqués dans le métabolisme de la vitamine D

Gène	Polymorphisme	Influence potentielle
<i>VDR</i>	BsmI (rs1544410) [120]	<ul style="list-style-type: none"> • Situé au niveau de l'extrémité 3' non-codante de l'ADN (UTR) • Haplotype BA (polymorphismes BsmI, ApaI et TaqI) : augmentation de l'expression de l'ARN messager du VDR ? (résultats contrastés)
	FokI (rs2228570)	Allèle C (F) : protéine VDR plus courte, plus active [120]
	Cdx2 (rs11568820) [120]	<ul style="list-style-type: none"> • Situé dans la région du promoteur (extrémité 5' de l'ADN) • Allèle A : augmentation de la liaison du VDR au facteur de transcription Cdx2, augmentation de l'expression du gène <i>VDR</i> au niveau de l'intestin, augmentation de l'absorption intestinale de calcium
<i>RXR</i>	rs7861779	<ul style="list-style-type: none"> • Situé au niveau d'un intron, possible déséquilibre de liaison avec d'autres polymorphismes • Allèle A : augmentation de risque de cancer du côlon proximal [121], diminution de risque de récurrence de cancer du côlon proximal [122]
	rs12004589	Allèle A : augmentation de risque de cancer colorectal (MSI élevé) [121]
<i>GC</i>	rs4588 et rs7041	<ul style="list-style-type: none"> • Allèles rs4588 T et rs7041 A : moindre statut en vitamine D [82, 85] • Forme Gc2 de la <i>VDBP</i> (rs4588 T et rs7041 A) : moindre affinité pour la 25OHD [123] et moindre production/activité du Gc-MAF anti-tumoral [124, 125]
<i>CYP24A1</i>	rs4809958	Allèle G : moindre risque d'insuffisance en vitamine D [126] et concentration plus importante en 1,25(OH) ₂ D [127]
<i>CaSR</i>	rs1801725	Allèle T : augmentation de la concentration en calcium circulant [128, 129]
	rs4678174	Allèle C : diminution de risque de cancer du côlon proximal [130], pas d'association avec le cancer colorectal [121, 131, 132]

En 2008, le CIRC/IARC a produit un rapport « Vitamine D et Cancer » [16] dans lequel ont été évalués les niveaux de preuve associés à la relation entre la vitamine D et le risque de différentes localisations de cancer. Les conclusions indiquent que le niveau de preuve associé à la relation

entre le statut en vitamine D et le risque de cancer colorectal peut être considéré comme convaincant (même si la causalité n'est pas encore établie), conclusions confirmées par des méta-analyses plus récentes [133-136]. Toutefois, les niveaux de preuve associés aux autres localisations (notamment sein et prostate) sont limités du fait de résultats contrastés ou insuffisants. Ainsi, de nouvelles études sont nécessaires pour étudier les associations entre la vitamine D et le risque de cancer pour ces autres localisations.

1. Vitamine D et risque de cancer du sein

En France et dans le monde, le cancer du sein est le cancer le plus fréquent chez les femmes (31% et 25% des cancers respectivement [112, 113]). Malgré des hypothèses mécanistiques suggérant que la vitamine D pourrait jouer un rôle protecteur dans la prévention du cancer du sein [38, 118, 137], les études épidémiologiques disponibles ne permettent pas de conclure à l'heure actuelle.

En 2008, le CIRC/IARC a en effet conclu que les résultats concernant l'association entre la concentration en 25(OH)D ou certains polymorphismes du *VDR* et le risque de cancer du sein étaient hétérogènes et ne permettaient pas de conclure [16]. Depuis ce rapport, plusieurs méta-analyses d'études prospectives ont été conduites, parmi lesquelles la plus récente menée par Kim et al. [138] n'a observé aucune association entre la concentration en 25(OH)D et le risque de cancer du sein, avec une certaine hétérogénéité dans les résultats des études incluses.

Par ailleurs, deux récentes méta-analyses [139, 140] et une analyse poolée [141] n'ont observé aucune association entre le polymorphisme *VDR* BsmI et le risque de cancer du sein, et deux méta-analyses [139, 140] ont observé une augmentation de risque de cancer du sein associée au génotype *VDR* FokI ff alors qu'une autre n'observait aucune association [142]. Un petit nombre d'études cas-témoins a investigué les relations entre polymorphismes du gène *GC* (rs4588 et rs7041) et le risque de cancer du sein, avec des résultats contrastés [123, 143, 144].

Ces différences de résultats observées dans les études épidémiologiques suggèrent que des facteurs individuels pourraient modifier l'association entre la vitamine D et le risque de cancer du sein. Deux facteurs de risque pour le cancer du sein, à savoir l'indice de masse corporelle (IMC) et la consommation d'alcool [145] devraient en particulier être pris en compte. En effet, un IMC plus élevé a été associé à une moindre concentration circulante en 25(OH)D [75, 146], du fait d'une dilution de cette molécule lipophile dans la masse grasse [31]. De plus, il a été suggéré que la synthèse de 1,25(OH)₂D pourrait être altérée dans le tissu adipeux des individus obèses [147]. De précédentes études prospectives menées sur de larges échantillons ont par ailleurs observé qu'un statut plus élevé en vitamine D était associé à une diminution de risque de cancer du sein chez les femmes minces [148] et à une augmentation de risque de cancer du sein chez les femmes avec un IMC plus élevé [149, 150]. S'agissant de la consommation d'alcool, des apports modérés ont été associés à un statut en vitamine D plus élevé [75, 146, 151] alors qu'une consommation d'alcool importante est connue pour être associée à un statut moindre en vitamine D [152]. Par ailleurs, l'alcool est un facteur de risque reconnu de cancer du sein [145], en agissant via différents mécanismes comme l'augmentation de la concentration en estrogènes circulants ou l'augmentation du stress oxydant [153, 154]. Ces mécanismes délétères pourraient être en partie contrés par la vitamine D. En effet des données mécanistiques ont suggéré que la vitamine D pourrait, entre autres, diminuer le signal des estrogènes [137] et diminuer le stress oxydant et l'inflammation [38, 118]. Ainsi, si ces hypothèses sont vérifiées, l'association potentiellement inverse entre la vitamine D et le risque de cancer du sein devrait être plus forte chez les plus fortes consommatrices d'alcool.

Un des objectifs de cette thèse était donc d'étudier les associations entre le statut en vitamine D, certains polymorphismes de gènes impliqués dans le métabolisme de la vitamine D et/ou du calcium (*VDR*, *GC*, *RXR*, *CYP24A* et *CaSR*) et le risque de cancer du sein, en évaluant si ces associations sont modifiées par le statut pondéral ou la consommation d'alcool.

2. Vitamine D et risque de cancer de la prostate

Le cancer de la prostate est le cancer le plus fréquent chez les hommes en France (26%) et le deuxième plus fréquent dans le monde (15%) après le cancer du poumon (17%) [112, 113]. Des hypothèses mécanistiques issues d'études expérimentales ont suggéré que la vitamine D pourrait être impliquée dans la prévention du cancer de la prostate [118, 155-157]. Toutefois, jusqu'à présent, les résultats épidémiologiques concernant la relation entre la concentration en 25(OH)D et le risque de cancer de la prostate sont contrastés.

Suite à une méta-analyse dose-réponse incluant 15 études prospectives réalisée dans le cadre du Continuous Update Project 2014 sur le cancer de la prostate [158], le WCRF/AICR a conclu que le niveau de preuve associé à la relation entre concentration en 25(OH)D et risque de cancer de la prostate était toujours « limité-sans conclusion ». La plupart des études incluses dans cette méta-analyse n'ont observé aucune association.

De plus, de récentes méta-analyses n'ont montré aucune association entre les polymorphismes *VDR* BsmI, FokI et Cdx2 et le risque de cancer de la prostate [159-161]. La littérature s'intéressant aux polymorphismes d'autres gènes (*GC*, *CYP24A1*, *RXR* et *CaSR*) en relation avec le risque de cancer de la prostate étant plus limitée [162-165].

Par ailleurs, les études expérimentales et épidémiologiques disponibles suggèrent que des régimes alimentaires riches en calcium pourraient être associés à une augmentation de risque de cancer de la prostate [158]. Or, la vitamine D et la PTH sont deux acteurs clé de l'homéostasie calcique. Ainsi, vitamine D, PTH et calcium sont étroitement liés et pourraient s'influencer dans leur rôle potentiel dans la carcinogenèse prostatique. A notre connaissance, seule une étude prospective a investigué l'association entre la concentration en PTH et le risque de cancer de la prostate et n'a observé aucune association [166].

Un des objectifs de cette thèse était donc d'étudier les associations entre le statut en vitamine D, certains polymorphismes des gènes *VDR*, *GC*, *CYP24A1*, *RXR* et *CaSR*, la concentration plasmatique en PTH, les apports alimentaires en calcium et le risque de cancer de la prostate.

3. Vitamine D et risque de cancers liés au tabac

Le tabagisme est un facteur de risque majeur pour différents cancers (en particulier des systèmes respiratoires, digestifs et urinaires) du fait des nombreux carcinogènes libérés durant la combustion de la cigarette [167]. Ainsi, il apparaît pertinent de regrouper sous le terme « cancers liés au tabac » l'ensemble des cancers pour lesquels le tabac est un facteur de risque reconnu [168] : poumon, tête et cou (cavité orale, pharynx, larynx, sinus nasaux), tractus digestif (œsophage, pancréas, estomac, foie, côlon-rectum), vessie, uretère, reins, col de l'utérus, ovaires et leucémie myéloïde.

Lorsqu'elles sont groupées, les localisations de « cancers liés au tabac » représentent plus de la moitié des cancers en France [112, 169]. Des études expérimentales ont suggéré que la vitamine D pourrait jouer un rôle protecteur vis-à-vis des carcinogènes du tabac, en particulier grâce à sa

capacité d'inhibition de la formation de tumeurs chimio-induites résultant de l'exposition à ces carcinogènes [118, 119, 170-172]. Ainsi la vitamine D pourrait être impliquée dans la prévention des cancers liés au tabac.

A notre connaissance, une seule étude a précédemment investigué les associations entre le statut en vitamine D et le risque de cancers liés au tabac (considérés comme une seule issue) et a observé une augmentation de risque associée à un plus faible statut en vitamine D [173]. D'autres études ont investigué les associations entre la vitamine D et différentes localisations de cancer incluses dans les « cancers liés au tabac » considérées séparément. Les études épidémiologiques existantes supportent un rôle protecteur de la vitamine D vis-à-vis du risque de cancer colorectal [72, 135, 174]. Pour d'autres localisations comme le poumon, la vessie, l'œsophage, l'estomac, le pharynx, le larynx, le foie, les reins et le pancréas, la littérature est plus rare et les résultats plus contrastés [175-183]. Pour certaines de ces localisations, des études ont également suggéré que l'effet protecteur de la vitamine D serait plus prononcé chez les fumeurs [173, 178, 184, 185], renforçant ainsi l'hypothèse que la vitamine D permettrait de contrer certains effets délétères du tabagisme.

Enfin, à notre connaissance, aucune étude n'a investigué l'association entre certains polymorphismes de gènes impliqués dans le métabolisme de la vitamine D (*VDR*, *GC*, *CYP24A1*, *RXR* et *CaSR*) et le risque de cancers liés au tabac au global. Certaines études ont néanmoins été réalisées pour des localisations spécifiques. Celles-ci s'intéressaient principalement à la relation entre les polymorphismes du *VDR* et le risque de cancer colorectal [174, 186] et ont suggéré une association inverse avec les polymorphismes BsmI (allèle B vs. b) et Cdx2 (allèle c vs. C). Très peu d'études se sont intéressées à d'autres localisations de cancers liés au tabac ou à d'autres polymorphismes génétiques [121, 184, 187-191].

Un des objectifs de cette thèse était donc d'étudier les associations entre le statut en vitamine D, certains polymorphismes des gènes *VDR*, *GC*, *CYP24A1*, *RXR* et *CaSR* et le risque de cancers liés au tabac, en évaluant si ces associations sont modifiées par le statut tabagique.

Objectifs du travail de thèse

Ce travail de thèse se découpe en deux parties principales : une première partie portant sur les connaissances liées à la vitamine D et le statut en vitamine D (aspects descriptifs) et une seconde partie portant sur les relations entre la vitamine D et le risque de cancer (aspects étiologiques). Les objectifs de ce travail de thèse étaient donc les suivants :

A) Partie 1 – Vitamine D : connaissances et statut (aspects descriptifs)

- Evaluer les sources d’information et les connaissances/croyances liées à la vitamine D – sources, effets santé, statut en vitamine D – dans un échantillon d’environ 60 000 adultes issus de la population générale (cohorte NutriNet-Santé) et étudier comment ces connaissances sont influencées par les caractéristiques sociodémographiques et économiques des individus.
- Etudier les déterminants du statut en vitamine D en évaluant les associations relatives entre le statut en vitamine D et un ensemble de caractéristiques phénotypiques et génétiques au sein d’un large échantillon d’adultes issus de la population générale (cohorte SU.VI.MAX).
- Développer (et tester dans une cohorte indépendante) un score simple basé sur des caractéristiques phénotypiques individuelles visant à détecter des adultes à risque d’insuffisance en vitamine D, pour une utilisation en pratique clinique (cohortes SU.VI.MAX et NutriNet-Santé).
- Proposer des seuils de référence pour la concentration en PTH en prenant en compte le statut en vitamine D et d’autres modificateurs potentiels comme l’âge, le sexe, le statut pondéral et les apports en calcium, à partir des concentrations en PTH observées dans un large échantillon d’adultes issus de la population générale (cohorte SU.VI.MAX).

B) Partie 2 – Vitamine D et risque de cancer (aspects étiologiques)

- Etudier les associations entre la vitamine D et le risque de cancer du sein, de cancer de la prostate et de cancers liés au tabac (cohorte SU.VI.MAX) en considérant le statut en vitamine D (concentration plasmatique en 25(OH)D) et différents polymorphismes de gènes impliqués dans le métabolisme de la vitamine D (*VDR*, *CYP24A1*, *GC*, *RXR* et *CaSR*).
- Explorer des modifications potentielles de ces associations par des facteurs individuels comme la consommation d’alcool, le statut pondéral, le statut tabagique, ou les polymorphismes génétiques.

Présentation des cohortes SU.VI.MAX et NutriNet-Santé et aspects méthodologiques

Afin de répondre aux objectifs définis, les travaux présentés dans cette thèse ont été conduits en utilisant les données de deux cohortes coordonnées par l'Equipe de Recherche en Epidémiologie Nutritionnelle : l'étude SU.VI.MAX (1994-2007) et l'étude NutriNet-Santé (2009-). Dans cette partie, ces deux cohortes vont être présentées (présentation générale, collecte des données, informations spécifiques aux travaux de cette thèse).

I. SU.VI.MAX



A) Présentation de l'étude

L'étude SU.VI.MAX (Supplémentation en Vitamines et Minéraux AntioXydants, clinicaltrials.gov NCT00272428) est initialement un essai contrôlé randomisé en double aveugle contre placebo visant à évaluer l'impact d'une supplémentation quotidienne en antioxydants sur l'incidence des cancers et des maladies cardiovasculaires (cardiopathies ischémiques) et sur la mortalité [192].

13 017 volontaires (5141 hommes et 7876 femmes) âgés entre 35 et 60 ans ont été recrutés entre 1994 et 1995 au sein de la population générale. L'intervention consistait en la prise quotidienne d'une capsule contenant des doses nutritionnelles en vitamines et minéraux antioxydants (120mg d'acide ascorbique, 30mg de vitamine E, 6mg de β -carotène, 100 μ g de sélénium et 20mg de zinc) ou un placebo. Cette intervention a duré jusqu'en Septembre 2002 (7,5 ans) et le suivi des évènements de santé s'est poursuivi jusqu'en Septembre 2007. 5,2% des participants ont été perdus de vue au cours du suivi. La vitamine D ne faisait pas partie de la capsule de supplémentation prise durant l'essai et on recommandait aux participants de ne pas prendre de compléments alimentaires (vitamine D ou autre) en automédication pendant la durée de l'essai.

A l'issue de l'intervention [193], aucune différence significative n'a été observée entre le groupe supplémenté en antioxydants et le groupe placebo chez les femmes pour l'ensemble des effets santé étudiés. En revanche, une diminution du risque de cancer et de la mortalité a été mise en évidence chez les hommes supplémentés.

Par la suite, l'ensemble des données récoltées au cours du suivi de la cohorte SU.VI.MAX a permis de réaliser de nombreuses études d'observation descriptives ou étiologiques sur les relations entre la nutrition et la santé.

Tous les participants ont fourni un consentement écrit. L'étude a été conduite en accord avec les recommandations de la Déclaration d'Helsinki et a été approuvée par le comité d'éthique de l'hôpital Cochin (CCPPRB n°706/ n°2364) à Paris et par la Commission Nationale de l'Informatique et des Libertés (CNIL n°334641/ n°907094).

B) Collecte des données

1. Caractéristiques sociodémographiques, mode de vie et alimentation

Les données de caractéristiques de la population, de mode de vie et d'alimentation ont été collectées à l'aide de questionnaires auto-administrés envoyés par courrier ou en utilisant le Minitel [192, 193].

Pour être inclus dans la cohorte SU.VI.MAX, tous les participants devaient compléter des questionnaires permettant de collecter des données sociodémographiques (situation familiale, niveau d'étude, situation professionnelle et catégorie socioprofessionnelle...), liées au mode de vie (activité physique, tabagisme, consommation d'alcool...) ou à l'état de santé (antécédents, prise de médicaments...). Les individus ont également autoévalué leur niveau d'activité physique comme étant irrégulier, <1h/jour de marche ou équivalent ou ≥1h/jour de marche ou équivalent.

Des questionnaires de suivi mensuels ont été envoyés tout au long de l'intervention pour évaluer le respect des protocoles de l'essai et suivre l'état de santé des participants.

Tous les 2 mois, les participants étaient invités à compléter des enregistrements alimentaires de 24h via le Minitel. Ces enregistrements étaient répartis aléatoirement entre jours de semaine et de week-end et au cours des saisons afin de prendre en compte la variabilité intra-individuelle des consommations alimentaires. Les participants devaient estimer la taille des portions consommées à l'aide d'un livret photo validé [194]. Ils devaient sélectionner les aliments consommés au cours du petit-déjeuner, du déjeuner, du dîner, ou toute autre occasion durant la journée parmi une liste prédéfinie de 1000 items environ. Des recettes françaises validées par des professionnels de l'alimentation et de la nutrition ont été utilisées pour estimer les quantités d'aliments consommés à partir de plats composés. Les apports moyens en nutriments, en alcool et en énergie ont été estimés à partir d'une table de composition française des aliments publiée [195].

2. Données cliniques et biologiques

A l'inclusion, tous les participants ont fait l'objet d'un examen clinique par les médecins et infirmiers de l'étude. Des prélèvements sanguins (35ml) ont alors été effectués à jeun (≥12h au moment de la visite). Tous les prélèvements ont été réalisés entre Octobre et Mai. Les échantillons de sang veineux ont été collectés dans des tubes Vacutainer et ont été immédiatement centrifugés. Moins d'une heure après le prélèvement, les aliquotes de plasma (conservés dans de l'héparine sodium) et le buffy-coat (fraction de sang non coagulée après centrifugation par densité de gradient) obtenus ont été placés à -20°C dans de la glace carbonique pour être transportés vers la biobanque centrale (délai maximum de 24h) où ils seront conservés dans de l'azote liquide (-196°C), en vue de futures utilisations (analyses plasmatiques et extraction d'ADN).

Tous les ans au cours du suivi, les sujets étaient invités à participer à des visites médicales. Au cours de ces visites, étaient réalisés en alternance soit un prélèvement sanguin (inclusion puis tous les 2 ans : mesure de la cholestérolémie, de la glycémie et des concentrations sanguines en antioxydants inclus dans la capsule d'intervention) soit un examen clinique (1 an après l'inclusion puis tous les 2 ans : mesures anthropométriques, mesure de la tension artérielle, électrocardiogramme, etc.). Le poids a été mesuré à l'aide d'une balance électronique (Seca, Hambourg, Allemagne) d'une précision de 0,1kg (les participants devaient porter des vêtements légers sans chaussures). La taille a été mesurée au centimètre près à l'aide d'une toise murale.

3. Evènements de santé

Les participants déclaraient eux-mêmes tout évènement de santé via les questionnaires de suivi mensuels ou lors des visites médicales annuelles. Suite à cette déclaration, toutes les informations médicales d'intérêt et les rapports pathologiques étaient récupérés auprès des participants et/ou des hôpitaux et étudiés par un comité de validation indépendant composé d'experts médecins. Les évènements de santé validés étaient ensuite codés selon la classification internationale des maladies chroniques (ICD-10) [196].







4. Exposition solaire et phototype

Au cours du suivi, différents questionnaires portant sur des sujets spécifiques ont également été régulièrement envoyés aux participants. Ainsi, un questionnaire visant à collecter des données concernant l'exposition solaire et le phototype a été posé en 1997 et en 2001. Ce questionnaire comprenait 14 items portant sur des aspects de comportement vis-à-vis de l'exposition et de la protection solaires. De plus, 6 questions permettaient d'évaluer la connaissance des risques liés à l'exposition solaire. La première partie du questionnaire était consacrée à l'exposition et à la protection solaires au cours de l'année précédente et la seconde partie était consacrée à l'exposition et à la protection solaires au cours de la vie. On demandait notamment aux participants s'ils pensaient avoir été beaucoup, modérément, peu ou pas exposés au cours de l'année précédente et au cours de leur vie.

Par ailleurs, un score reflétant l'intensité de l'exposition solaire au cours de la vie a été développé et validé à partir de ce questionnaire au moyen d'une analyse en composantes principales incluant les différents aspects des comportement vis-à-vis de l'exposition et de la protection solaires évalués dans le questionnaire (bronzage, protection solaire, coups de soleil, exposition aux heures méridiennes, exposition solaire dans le cadre du travail, des loisirs, de la pratique d'activité physique...) [197-200]. Trois scores reflétant à la fois des dimensions d'exposition solaire et d'activité physique ont également été calculés [200] : pratique de sports de montagne, de sports nautiques ou d'activités en extérieur.

Enfin, des informations détaillées concernant le phototype ont été collectées : couleur de la peau, couleur naturelle des cheveux à 20 ans, taches de rousseur, susceptibilité aux coups de soleil, capacité à bronzer, ce qui a permis d'attribuer aux participants un phototype selon les catégories de Fitzpatrick (**Tableau 3**) [201].

Tableau 3 Phototype, classification de Fitzpatrick

Phototype	Réaction de la peau après une première exposition au soleil sans protection
I 	Brûle toujours, ne bronze jamais
II 	Brûle facilement, bronze difficilement
III 	Brûle parfois, bronze assez facilement
IV 	Brûle rarement, bronze facilement
V 	Brûle rarement, bronze intensément
VI 	Ne brûle jamais, fortement pigmentée

C) Etude cas-témoin nichée « vitamine D et cancer »

En 2012, un financement de l'Institut de Recherche En Santé Publique (IRESP, N°AAR201206) a été obtenu pour étudier les relations entre la vitamine D et le risque de cancer dans la cohorte SU.VI.MAX. Une étude cas-témoin nichée prospective a alors été mise en place avec la mesure des concentrations plasmatiques en 25(OH)D et PTH et le génotypage de 10 polymorphismes de gènes impliqués dans le métabolisme de la vitamine D.

1. Sélection de l'échantillon

L'ensemble des cas de premier cancer incident diagnostiqués entre l'inclusion en 1994 et la fin du suivi en 2007 ont été inclus. Deux témoins ont été associés à chaque cas en utilisant les facteurs d'appariement suivants liés au design de l'étude SU.VI.MAX, au risque de développer un cancer ou pouvant influencer le statut en vitamine D : sexe, âge (<40 ans/40-44 ans/45-49 ans/50-54 ans/55-65ans), groupe d'intervention de l'essai SU.VI.MAX initial (placebo/antioxydants), saison de prélèvement sanguin (Juin-Octobre/Novembre-Mai), et, pour les femmes, statut ménopausique à l'inclusion (ménopausée/non-ménopausée) et prise de traitements hormonaux de la ménopause à l'inclusion (THM, oui/non). Les témoins, sélectionnés aléatoirement parmi le pool de sujets éligibles, étaient indemnes de cancer à la date de diagnostic du cas correspondant mais pouvait présenter une maladie cardiovasculaire (avant ou après la date de diagnostic du cas correspondant), décéder, ou être perdu de vue après date de diagnostic du cas correspondant. Les témoins devaient également remplir les conditions suivantes : disponibilité des variables d'appariement, disponibilité de l'échantillon de plasma à l'inclusion, disponibilité de l'ADN (à l'inclusion ou à un autre moment du suivi) et, dans la mesure du possible disponibilité des données d'intérêt secondaires liées aux objectifs de l'étude cas-témoin nichée : exposition solaire, phototype, alimentation, consommation d'alcool, IMC, dosage du PSA à l'inclusion (hommes).

2. Mesure des concentrations plasmatiques et 25(OH)D et PTH

Les échantillons de plasma obtenus à l'inclusion (1994-1995) ont été utilisés pour déterminer les concentrations en 25(OH)D et PTH. Les échantillons (cas et témoins) ont été traités dans un ordre aléatoire.

La concentration en 25(OH)D totale a été déterminée par la technique Roche Cobas d'électrochimiluminescence (Roche Diagnostics, Meylan, France), basée sur le principe des liaisons compétitives : la première étape est une étape de dénaturation permettant d'extraire l'analyte, la majorité de la 25(OH)D étant liée à la VDBP. De la VDBP marquée avec du ruthenium est ajoutée à l'échantillon dénaturé conduisant à la formation d'un complexe VDBP marquée-25(OH)D. De la 25(OH)D biotinylée est ensuite ajoutée formant un complexe VDBP marquée au ruthenium-25(OH)D biotinylée qui est quantifié par électrochimiluminescence. Les coefficients de variation inter- et intra-analyses étaient inférieurs à 10% : coefficient de variation intra-analyse de 4,5% (les mêmes 8 échantillons testés 21 fois dans le même run) et coefficient de variation inter-analyse de 6,6% (8 échantillons avec différentes concentrations en 25(OH)D testés dans 42 runs séparés).

La concentration plasmatique en PTH à l'inclusion a été déterminée par immunométrie électrochimiluminescente Roche Cobas (Roche Diagnostics, Meylan, France), technique d'analyse de la PTH de seconde génération utilisant deux anticorps anti-PTH, l'un dirigé contre la portion 26-32 de la molécule de PTH et l'autre dirigé contre la portion 53-84 [202]. Le coefficient de variation inter-analyses étaient inférieur à 2,9% (3 échantillons avec différentes concentrations en PTH

testés dans 42 runs séparés) et le coefficient de variation intra-analyses était inférieur à 1,4% (les mêmes 3 échantillons testés 21 fois dans le même run).

Ces mesures ont été réalisées par le laboratoire de biochimie de l'Hôpital Jean Verdier (équipe Inserm U698, Université Paris 13) qui fait partie d'un programme de contrôle qualité des laboratoires Roche (TIQCon-) et d'un programme de contrôle qualité externe des laboratoires Bio-Rad Laboratories (EQAS). Les caractéristiques de performance des analyses Vitamine D étaient les suivantes : moyenne cible=34,20ng/ml ; moyenne=36,02ng/ml ; intervalle de confiance=34,27–37,78ng/ml ; SD=0,59 ; CV=1,63% ; biais=5,33% ; Zscore=3,45. Les caractéristiques de performance des analyses PTH étaient les suivantes : moyenne cible=197,0pg/ml ; moyenne=191,5pg/ml ; IC=167,9–215,1pg/ml ; SD=7,9 ; CV=4,10% ; biais=2,79% ; Zscore=0,32.

3. Génotypage de 10 polymorphismes de gènes impliqués dans le métabolisme de la vitamine D

Un à trois SNPs (polymorphismes affectant un seul nucléotide) ont été sélectionnés pour chaque gène d'intérêt impliqué dans le métabolisme de la vitamine D (*VDR*, *GC*, *CYP24A1*, *CaSR* et *RXR*) sur la base (1) de leur fréquence relativement importante dans des populations de type Caucasiens [203] : *VDR* rs1544410 (BsmI, minor allele frequency (MAF): T=0.2959), *VDR* rs2228570/10735810 (FokI, MAF: A=0.3285), *VDR* rs11568820 (Cdx2, MAF: T=0.4569), *CYP24A1* rs4809958 (MAF: G=0.1907), *GC* rs4588 (MAF: T=0.2079), *GC* rs7041 (MAF: C=0.3816), *RXR* rs7861779 (MAF: T=0.2804), *RXR* rs12004589 (T=0.1304), *CaSR* rs1801725 (MAF: T=0.0942) et *CaSR* rs4678174 (MAF: C=0.4619), et (2) de leur effet fonctionnel prédictible [204].

L'ADN génomique a été extrait pour chaque individu à partir de cellules sanguines mononucléées à l'aide de l'automate MagNa Pure Compact, qui permet l'isolement de l'ADN grâce à une technologie basée sur l'utilisation de billes magnétiques conformément aux instructions du fournisseur (Roche Diagnostics, Meylan, France). Les polymorphismes génétiques ont été évalués par discrimination allélique à l'aide de sondes fluorescentes et d'un essai TaqMan basé sur une activité 5' nucléase. Les polymorphismes ont été déterminés à l'aide de produits de génotypage TaqMan SNP (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). Les réactions de PCR ont été réalisées avec 1X TaqMan Universal PCR master mix (Applied Biosystems), 1X assay mix et 5ng d'ADN. Une PCR en temps réel a été réalisée à l'aide d'un système Step One Plus PCR system (Applied Biosystems) en utilisant un protocole qui consiste en une incubation à 50°C pendant 2min et à 95°C pendant 10min, suivie de 40 cycles comprenant une dénaturation à 92°C pendant 15 secondes, une phase d'hybridation/extension à 60°C pendant 1min. Les niveaux de fluorescence associés aux sondes FAM et VIC sont mesurés à 60°C pendant 1min, permettant l'identification claire de tous les génotypes sur un graphique bidimensionnel.

Un contrôle de la cohérence des données de génotypage a été réalisé pour chaque SNP en évaluant l'écart par rapport à l'équilibre de Hardy-Weinberg et en comparant les distributions des génotypes observés dans notre échantillon à ceux observés dans des populations européennes de référence : CSHL-HapMap-CEU and 1000GENOMES-phase_1_EUR [205] par des tests du χ^2 .

Dans l'échantillon témoin, tous les SNPs étudiés respectaient l'équilibre de Hardy-Weinberg ($P > 0,05$) sauf *VDR* BsmI rs1544410 et *VDR* FokI rs2228570/10735810 pour lesquels un léger écart a été observé ($P = 0,01$ pour les deux). La distribution des génotypes pour tous les SNPs dans cet échantillon était néanmoins similaire à celle observée dans les populations CSHLHapMap-CEU et 1000GENOMES-phase_1_EUR ($P > 0,05$).

II. NutriNet-Santé



A) Présentation de l'étude

L'étude NutriNet-Santé [206] est une large étude de cohorte prospective française basée sur Internet dont les objectifs sont d'étudier les relations entre la nutrition (nutriments, aliments, profils alimentaires, statut nutritionnel, activité physique) et la santé (en particulier différents évènements de santé comme l'incidence des maladies cardiovasculaires, des cancers, du diabète, de l'obésité, la mortalité...) ainsi que les déterminants des consommations alimentaires et du statut nutritionnel (ex. déterminants sociologiques, économiques, culturels, biologiques, cognitifs, liés aux perceptions et aux préférences, etc.). Le recrutement des volontaires a été lancé en Mai 2009 et se poursuit encore aujourd'hui. Les participants âgés de plus de 18 ans avec un accès Internet sont recrutés au sein de la population générale via de vastes campagnes multimédia. Tous les questionnaires sont complétés en ligne via un site dédié (www.etude-nutrinet-sante.fr). A ce jour 159 062 Nutrinautes sont inclus dans l'étude (123 654 femmes (77,7%) et 35 408 hommes (22.3%)) avec un âge moyen de 41,9±14,7ans (de 18 à 95ans).

Figure 3 Page d'accueil du site de l'étude NutriNet-Santé



L'étude NutriNet-Santé est conduite en accord avec les recommandations de la Déclaration d'Helsinki et a été approuvée par le comité d'évaluation éthique de l'Inserm (IRB Inserm n°0000388FWA00005831) et par la Commission Nationale de l'Informatique et des Libertés (CNIL n°908450/ n°909216). Un consentement éclairé électronique est obtenu pour chaque participant (EudraCT n°2013-000929-31).

B) Collectes des données

1. Caractéristiques sociodémographiques, mode de vie et alimentation

Pour être inclus dans la cohorte NutriNet-Santé, les participants devaient remplir un ensemble de cinq questionnaires initiaux (« kit d'inclusion ») pour lesquels le mode de passation via Internet a été jugé similaire au mode de passation traditionnel [207-209] :

- Caractéristiques sociodémographiques et de mode de vie : statut marital, nombre d'enfants, de petits-enfants, composition du foyer, profession exercée et diplôme (informations également demandées à propos du conjoint), niveau de revenu, tabagisme et consommation d'alcool.

Figure 4 Extrait du questionnaire sociodémographique et mode de vie

500 000 nutrinautes pour étudier les relations entre la nutrition et la santé

ESPACE MEMBRE
utilisateur: amezon
Dernière connexion: 20/04/2009 17:32:19

MON COMPTE
Statut du membre
Déconnexion

Questionnaire socio-démographique et mode de vie

Retour à la table

Si vous êtes déconnecté ou si vous fermez le questionnaire, vos réponses seront systématiquement sauvegardées

Table des questionnaires

Introduction
General
Foyer
Situation professionnelle
Statut professionnel
Profession actuelle
Diplôme
Situation du conjoint
Statut du conjoint
Profession du conjoint
Diplôme du conjoint
Revenu du foyer
Consommation de tabac
Tabac (sauf)
Consommation d'alcool
Alcool (sauf)

Quelle est votre situation matrimoniale actuelle ?

Marié(e)
 En couple (PACS, concubinage...)
 Divorcé(e) ou séparé(e)
 Veuf(ve)
 Célibataire
 Ou Non

Avez-vous un ou plusieurs enfant(s) dont vous êtes le père ou la mère biologique ?

Oui Non

Avez-vous adopté un ou plusieurs enfant(s) ?

Oui Non

OK Annuler Fermer

- Etat de santé : antécédents médicaux, prise de médicaments, antécédents familiaux (en particulier causes de décès des proches), et, pour les femmes, grossesses, antécédents gynécologiques, statut ménopausique, contraception et traitement de la ménopause.

Figure 5 Extrait du questionnaire santé

500 000 nutrinautes pour étudier les relations entre la nutrition et la santé

ESPACE MEMBRE
utilisateur: amezon
Dernière connexion: 20/04/2009 14:55:22

MON COMPTE
Statut du membre
Déconnexion

Questionnaire santé

Retour à la table

Si vous êtes déconnecté ou si vous fermez le questionnaire, vos réponses seront systématiquement sauvegardées

Table des questionnaires

Introduction
Vie reproductive
Cardiovasculaire
Cancer
Hospitalisations/cancer
Autres maladies
Sexe
Antécédents familiaux
Antécédents familiaux (sauf)
Pression artérielle

Avez-vous et/ou été-vous traité pour un ou plusieurs des problèmes de santé suivants ?

	Si oui, cochez cette case	Année du diagnostic	Si vous prenez des médicaments pour cette maladie, cochez cette case
Facteurs de risque cardiovasculaires			
Hypertension artérielle	<input type="checkbox"/>	<input type="text"/>	<input type="checkbox"/>
Diabète de type 2	<input type="checkbox"/>	<input type="text"/>	<input type="checkbox"/>
Hypercholestérolémie	<input type="checkbox"/>	<input type="text"/>	<input type="checkbox"/>
Hypertiglycémie	<input type="checkbox"/>	<input type="text"/>	<input type="checkbox"/>
Diabète de type 1	<input type="checkbox"/>	<input type="text"/>	<input type="checkbox"/>
Maladies de la thyroïde			
Hypothyroïdie	<input type="checkbox"/>	<input type="text"/>	<input type="checkbox"/>
Nodule(s) thyroïdien(s)	<input type="checkbox"/>	<input type="text"/>	<input type="checkbox"/>
Hyperthyroïdie	<input type="checkbox"/>	<input type="text"/>	<input type="checkbox"/>
Goitre	<input type="checkbox"/>	<input type="text"/>	<input type="checkbox"/>
Maladies respiratoires			
Bronchite chronique	<input type="checkbox"/>	<input type="text"/>	<input type="checkbox"/>

- Caractéristiques anthropométriques : taille, poids, tour de taille et tour de hanche mesurés par les participants (guide de mesures standardisées fourni), évolution du poids, pratique de régime, perception corporelle. Une étude de validation a permis de montrer que les tailles et

poids auto-déclarés étaient valides et très corrélés aux données anthropométriques mesurées par le personnel de l'étude [210].

Figure 6 Extrait du questionnaire anthropométrique

- **Activité physique** : version Internet du questionnaire IPAQ (International Physical Activity Questionnaire) [211], activité physique décrite selon 3 niveaux d'intensité (marche, activité modérée ou intense), fréquence d'activité par semaine et durée, estimation de la sédentarité (temps passé assis). Le niveau d'activité physique déclaré est converti en dépense énergétique hebdomadaire (équivalent métabolique, MET-minutes/semaine) puis est défini comme étant faible, modéré ou élevé en suivant les recommandations IPAQ [212].

Figure 7 Extrait du questionnaire activité physique

- **Alimentation** [213] : 3 enregistrements de 24h non consécutifs (2 jours de semaine et 1 jour de week-end) tirés au sort sur une période de 15 jours. Ces enregistrements permettent de récolter l'ensemble des consommations d'aliments et de boisson au cours d'une journée (3 repas principaux et possibilité d'ajouter d'autres prises alimentaires). La taille des portions est estimée à l'aide de photographies proposées à l'écran issues d'un livret validé [194]. Les apports en nutriments correspondant aux consommations alimentaires sont estimés en utilisant la table de composition des aliments « NutriNet-Santé » [214].

Figure 8 Extrait du questionnaire alimentaire



Cet ensemble de 5 questionnaires est envoyé tous les ans aux participants (« kit anniversaire »).

2. Données cliniques et biologiques

En 2011, les Nutrinautes ont été invités à participer au volet clinico-biologique de l'étude. Entre 2011 et 2014, 19 600 participants volontaires ont ainsi passé une visite médicale.

Au cours de cette visite, des échantillons de sang et d'urine ont été prélevés. Un échantillon de sang de 43ml a ainsi été prélevé à jeun ($\geq 6h$) en utilisant un système de type Vacutainer. Différents tubes contenant des séparateurs et anticoagulants spécifiques (notamment héparine lithium) ont été obtenus. Ces tubes ont ensuite été fractionnés en aliquotes pour être stockés à $-80^{\circ}C$ au sein de la biobanque centrale. Une série de dosages, notamment lipidiques (cholestérol, triglycérides) et une mesure de la glycémie ont été réalisés pour tous les participants.

Les participants ont également subi un examen clinique comprenant une mesure de la pression artérielle, un grip test et des mesures de la taille, du poids, du tour de taille, du tour de hanche et de la bio-impédance.

En 2013, dans le cadre d'un protocole de recherche spécifique visant à estimer la prévalence de l'insuffisance en vitamine D, 860 individus ont été sélectionnés aléatoirement afin de réaliser une mesure de leur statut en vitamine D. La concentration plasmatique en 25(OH)D a été mesurée par la même technique et le même laboratoire que dans le protocole de SU.VI.MAX décrit précédemment (voir SU.VI.MAX I.C)2.).

3. Evènements de santé

Les évènements de santé « majeurs » sont déclarés par les participants via le questionnaire santé annuel, via un questionnaire spécifique de suivi de l'état de santé (tous les 3 mois) ou à tout moment via une plateforme dédiée sur le site de l'étude. Suite à cette déclaration, les participants sont invités à envoyer leurs dossiers médicaux (hospitalisation, diagnostic...). Si nécessaire, les médecins traitants ou les structures de soin sont contactés par les médecins de l'étude afin d'obtenir des informations complémentaires. L'ensemble de ces informations est utilisé par un comité d'experts médecins afin de valider ces évènements de santé.

De plus, pour investiguer un décès éventuel et/ou obtenir la cause d'un décès, les informations issues de la base de données nationale (CépiDC) sont utilisées.

4. Exposition solaire, phototype et connaissances de la vitamine D

Au cours du suivi, les Nutrinautes sont régulièrement invités à répondre à des questionnaires spécifiques (facultatifs) portant sur différentes thématiques. Certains questionnaires sont envoyés à des intervalles donnés par rapport à l'inclusion (campagnes glissantes) et d'autres sont envoyés ponctuellement à l'ensemble de la cohorte en même temps (campagnes fixes).

En Mai 2012, un questionnaire portant sur les connaissances liées à la vitamine D a été envoyé à tous les participants. Les participants inclus dans la cohorte après cette date ont également reçu ce questionnaire (20 mois après l'inclusion). Afin d'estimer les connaissances des participants à propos de la vitamine D, on leur demandait s'ils avaient déjà entendu parler de la vitamine D (seuls les participants répondant « Oui » à cette première question avaient accès aux questions suivantes), où/auprès de qui en avaient-ils entendu parler (sources d'information), quelles étaient les sources à partir desquelles l'organisme peut obtenir de la vitamine D, quels étaient les effets santé de la vitamine D et s'ils pensaient que leur statut en vitamine D était trop bas (voir le questionnaire en **Annexe 8**). Ce questionnaire comprenait également une question portant sur la réaction de la peau après une première exposition au soleil sans protection, permettant d'attribuer un phototype selon la classification de Fitzpatrick.

En Juillet 2014, un autre questionnaire portant sur l'exposition solaire été envoyé aux participants. Ce questionnaire reprenait les items du questionnaire « exposition au soleil » précédemment posé dans le cadre de l'étude SU.VI.MAX (voir I.B)2.) et comprenait des questions portant notamment sur l'exposition solaire au cours de l'année précédente et au cours de la vie (différents items et en particulier une auto-estimation de l'exposition solaire habituelle : importante, modérée, faible, pas d'exposition) et sur la protection solaire.

Enfin, un questionnaire portant sur la prise de compléments alimentaires est posé 2 mois après l'inclusion. Ce questionnaire permet de recueillir des informations sur la prise actuelle de compléments alimentaires (liste de substances proposée comprenant la vitamine D) et sur la prise de compléments alimentaires au cours des 12 derniers mois (produit, posologie, etc.).

III. Analyses statistiques : aspects communs aux différents travaux

Les méthodes d'analyse communes à l'ensemble des travaux présentés ci-après sont brièvement présentées ici.

A) Seuils cliniques de référence pour la concentration en 25(OH)D

Dans tous les travaux impliquant la concentration plasmatique en 25(OH)D, nous avons utilisé les seuils cliniques de référence suivants (voir Introduction II.B)1.) : carence (<10ng/ml), insuffisance (<20ng/ml) et « statut optimal » (≥30ng/ml).

B) Polymorphismes génétiques

Dans les travaux portant sur les polymorphismes génétiques, étant donné qu'il n'existe pas d'hypothèse établie concernant le caractère dominant, codominant ou récessif des SNPs étudiés, nous avons utilisé les 3 codages suivants correspondant aux 3 modalités possibles d'expression des gènes : codominant (hétérozygotes (HT) vs. homozygote non muté (WT) et homozygote muté (MT) vs. WT), dominant (HT et MT vs. WT) et récessif (MT vs. WT et HT).

C) Données alimentaires

Dans les différents travaux utilisant les données alimentaires, seuls les enregistrements alimentaires de 24h réalisés au cours des 2 premières années de suivi ont été pris en compte : consommations proches de l'inclusion (analyses descriptives basées sur les caractéristiques des participants à l'inclusion) et consommations antérieures au diagnostic de cancer (design prospectif des analyses étiologiques).

D) Analyses statistiques

Les tests d'interaction entre deux variables ont été réalisés en introduisant le produit de ces deux variables dans les modèles principaux considérés.

Sauf mention contraire, pour toutes les covariables, les données manquantes représentaient moins de 5% et ont été imputées à la valeur modale.

Tous les tests statistiques étaient bilatéraux et une P-value <0,05 était considérée comme statistiquement significative.

Les analyses ont été réalisées à l'aide du logiciel SAS (v9.3, Cary, NC).

Pour les travaux étiologiques étudiant les associations entre la vitamine D et le risque de cancer, les comparaisons des caractéristiques à l'inclusion des cas de cancer et des témoins ont été réalisées à l'aide de tests du χ^2 pour les variables catégorielles ou de tests de Fisher (modèles d'analyse de la variance) pour les variables quantitatives.

Partie 1 – Vitamine D : connaissances et statut (aspects descriptifs)

Dans cette partie, sont présentés les travaux descriptifs réalisés dans le cadre de cette thèse : étude des connaissances liées à la vitamine D, des déterminants du statut en vitamine D, de l'influence du statut en vitamine D sur les valeurs de référence pour la concentration en PTH et développement d'un score visant à détecter des individus à risque d'insuffisance en vitamine D en population générale.

I. Connaissances de la vitamine D

Deschasaux M, Souberbielle JC, Partula V, Lecuyer L, Gonzalez R, Srour B, Guinot C, Malvy D, Latino-Martel P, Druetne-Pecollo N, Galan P, Hercberg S, Kesse-Guyot E, Fassier P, Ezzedine K*, Touvier M* (*equally contributed). What do people know (and believe) about vitamin D: results from 60,000 French adults. **Under Review**.

L'article issu de ces résultats est présenté en **Annexe 1**.

A) Population d'étude

Cette étude portait sur un sous-échantillon de la cohorte NutriNet-Santé. Parmi les 116 018 participants ayant reçu le questionnaire (facultatif et sans relance) portant sur les connaissances liées à la vitamine D entre Mai 2012 et Janvier 2015, 60 825 y ont répondu (taux de réponse : 52%). 1552 participants ont été exclus du fait de données manquantes ou non utilisables pour les variables utilisées pour le redressement. 59 273 participants ont donc été finalement inclus dans cette étude.

B) Analyses statistiques

Les données ont été pondérées afin d'obtenir un échantillon redressé représentatif de la population française du point de vue de la distribution des caractéristiques sociodémographiques. Des poids sexe-spécifiques normalisés ont été calculés en utilisant la macro SAS %CALMAR et les données de recensement INSEE de 2009 [215] pour l'âge, le niveau d'étude, l'aire géographique d'habitation, la catégorie professionnelle, le statut marital et la présence d'enfants au sein du foyer.

Les réponses obtenues pour le questionnaire vitamine D (N, %) ont été comparées (tests du χ^2) en fonction des caractéristiques sociodémographiques (sexe, âge, niveau d'étude, revenu mensuel par unité de consommation, région d'habitation (Nord, Sud), taille de l'unité urbaine), de l'utilisation de médicaments ou de compléments alimentaires contenant de la vitamine D, des sources d'information concernant la vitamine D, du statut en vitamine D, de l'exposition solaire déclarée et du phototype de Fitzpatrick. Pour toutes les analyses (sauf celles portant sur la comparaison en fonction de l'âge et du sexe), des modèles de régression logistique non conditionnelle ajustés sur l'âge et le sexe ont été utilisés.

Etant donnée la taille de l'échantillon d'étude, de faibles différences observées pouvaient être statistiquement significatives. Ainsi, pour des raisons d'interprétation, nous avons considéré les différences intergroupes lorsqu'elles étaient d'au moins 5%.

C) Résultats

La distribution des caractéristiques individuelles dans notre population d'étude (non-redressée et redressée) est présentée dans le

Tableau 4.

Tableau 4 Caractéristiques de la population d'étude « Connaissance de la vitamine D », avant et après redressement, cohorte NutriNet-Santé, 2009-2015

	Non-redressé		Redressé	
	N	%	N	%
Sexe				
Hommes	13237	22,3	26834	46,7
Femmes	46036	77,7	30675	53,3
Age, années				
Moyenne, SD	48,5	14,5	48,3	15,9
<35	13625	23,0	14747	25,6
35-55	22920	38,7	21226	36,9
≥55	22728	38,3	21536	37,5
Niveau d'étude				
<Baccalauréat	11308	19,1	33589	58,4
<2 ans d'études supérieures	8937	15,1	9164	15,9
≥2 ans d'études supérieures	39028	65,8	14755	25,7
Revenu mensuel par unité de consommation				
<1200€	8445	14,3	15434	26,8
1200 à 1800€	14940	25,2	16856	29,3
1800 à 2700€	15662	26,4	12625	22,0
≥2700€	16457	27,8	8086	14,1
Ne souhaite pas répondre	3769	6,4	4507	7,8
Phototype (classification de Fitzpatrick)				
I, Brûle toujours, ne bronze jamais	3776	6,4	3557	6,2
II, Brûle facilement, bronze difficilement	18195	30,7	15621	27,2
III, Brûle parfois, bronze assez facilement	21136	35,7	19364	33,7
IV, Brûle rarement, bronze facilement	10800	18,2	11742	20,4
V, Brûle rarement, bronze intensément	3695	6,2	4342	7,6
VI, Ne brûle jamais, fortement pigmentée	1670	2,8	2883	5,0
Région d'habitation				
Nord de la France (Nord, Bassin Parisien, Est, Centre-Est, Ouest)	45296	76,4	44022	76,6
Sud de la France (Sud-Ouest, Bassin méditerranéen)	13977	23,6	13486	23,4
Taille de l'unité urbaine				
Commune rurale	12995	21,9	14607	25,4
Commune urbaine <200 000 habitants	19277	32,6	20170	35,1
Commune urbaine ≥200 000 habitants	26952	45,5	22686	39,5
Prise de médicaments ou de compléments alimentaires contenant de la vitamine D¹				
Oui	7622	12,9	6087	10,6

¹ On considère que les participants avaient déjà pris un médicament ou un complément alimentaire contenant de la vitamine D s'ils avaient déclaré prendre un médicament ou un complément alimentaire contenant de la vitamine D dans le questionnaire portant sur la prise de compléments alimentaires ou dans un des questionnaires portant sur l'état de santé avant d'avoir répondu au questionnaire portant sur la connaissance de la vitamine D.

Connaissance basique de la vitamine D et sources d'information (Tableau 6 et Tableau 7)

Au global, 92% des participants ont déclaré avoir déjà entendu parler de la vitamine D. Cette proportion était plus importante chez les femmes, les participants plus âgés, ceux avec un plus haut niveau d'étude et ceux avec un plus haut revenu.

Les principales sources d'information étaient les médecins (41%), la télévision (39%) et les magazines (39%). Les médecins étaient plus souvent cités par les femmes, les participants plus âgés et ceux avec un plus faible niveau d'étude. Les médias étaient globalement plus cités par les hommes et une distinction a été observée entre la télévision (plus citée par les plus jeunes et ceux avec un plus faible niveau de d'éducation et de revenu) et les journaux et la radio (plus cités par les plus âgés et ceux avec un plus haut niveau de revenu). L'école/Université était plus souvent citée par les plus jeunes, ceux avec un plus haut niveau d'étude et un plus haut revenu.

Opinion concernant le statut en vitamine D (Tableau 6 et Tableau 7)

24% des participants ont répondu qu'ils pensaient que leur statut en vitamine D était trop bas. Cette proportion était plus importante chez les femmes, chez les participants résidant dans le Nord de la France (25% vs. 19% dans le Sud, $P < 0,0001$, non tabulé), dans des communes urbaines (28% vs. 20% dans des communes rurales, $P < 0,0001$, non tabulé) et chez ceux ayant déclaré une (très) faible exposition au soleil (27% vs. 19% pour une exposition solaire importante, $P < 0,0001$, non tabulé). Cette proportion atteignait 47% chez les participants ayant déjà pris des médicaments/compléments alimentaires contenant de la vitamine D. Les participants avec la peau claire (phototype I/II) apparaissaient plus concernés par leur statut en vitamine D que ceux avec une peau foncée (phototype V/VI ; 30% vs. 17%, $P < 0,0001$, non tabulé).

Parmi les participants pour lesquels le statut en vitamine D était disponible ($N=700$, **Tableau 5**, concentration moyenne en $25(OH)D=24,5 \pm 11,8$ ng/ml), seuls 30% de ceux qui pensaient avoir un statut en vitamine D trop bas présentaient effectivement une insuffisance en vitamine D (concentration en $25(OH)D < 20$ ng/ml) et seuls 16% de ceux présentant une insuffisance en vitamine D étaient inquiets vis-à-vis de leur statut.

Tableau 5 Opinion vis-à-vis du statut en vitamine D et statut en vitamine D mesuré, cohorte NutriNet-Santé, France 2009-2015

	Je pense que mon taux de vitamine D est trop bas				p ¹
	Tous	D'accord	Pas d'accord	Je ne sais pas	
Statut en Vitamine D					0,005
<20ng/ml (insuffisance)					
N	276	45	75	156	
% (ligne)	100	16,3	27,2	56,5	
% (colonne)	39,4	30,4	35,1	46,2	
≥20ng/ml					
N	424	103	139	182	
% (ligne)	100	24,3	32,8	42,9	
% (colonne)	60,6	69,6	64,9	53,8	
Tous					
N	700	148	214	338	
% (ligne)	100	21,1	30,6	48,3	

¹ P pour la comparaison des réponses entre le statut en vitamine D mesuré et l'opinion vis-à-vis du statut en vitamine D en utilisant un test de χ^2 issu de modèles de régression logistique polytomique non conditionnelle ajustés sur l'âge (<35 ans, 35-55 ans, ≥55 ans) et le sexe.

Tableau 6 Sources d'information concernant la vitamine D et opinion vis-à-vis du statut en vitamine D en fonction du sexe, de l'âge et du niveau d'étude, cohorte NutriNet-Santé, France 2009-2015

	Tous		Sexe				Age						Niveau d'éducation									
			Femmes		Hommes		< 35 ans		35-55 ans		≥55 ans		< Baccalauréat		<2 ans d'études supérieures		≥2 ans d'études supérieures					
	N	%	N	%	N	%	P ¹	N	%	N	%	N	%	P ¹	N	%	N	%	N	%	P ²	
Avez-vous déjà entendu parler de la vitamine D ?	<0,0001																					
Oui ³	52873	91,9	29111	94,9	23762	88,6		13334	90,4	19191	90,4	20347	94,5		30451	90,7	8490	92,6	13932	94,4		
Non	2942	5,1	987	3,2	1955	7,3		852	5,8	1422	6,7	668	3,1		1927	5,7	460	5,0	555	3,8		
Je ne sais pas	1693	3,0	576	1,9	1117	4,2		560	3,8	612	2,9	521	2,4		1212	3,6	213	2,3	268	1,8		
Chez qui ou comment en avez-vous entendu parler ? (choix multiples)	<0,0001																					
Chez votre médecin	21467	40,6	14787	50,8	6680	28,1	<0,0001	4052	30,4	7758	40,4	9658	47,5	<0,0001	13519	44,4	2985	35,2	4963	35,6	<0,0001	
Chez un autre professionnel de santé	7357	13,9	4623	15,9	2734	11,5	<0,0001	2174	16,3	2594	13,5	2590	12,7	<0,0001	3982	13,1	1231	14,5	2145	15,4	<0,0001	
Dans un quotidien d'information	13842	26,2	6675	22,9	7168	30,2	<0,0001	3076	23,1	4928	25,7	5839	28,7	<0,0001	8201	26,9	2206	26,0	3435	24,6	<0,0001	
Dans un magazine	20438	38,7	11245	38,6	9192	38,7	0,9	4196	31,5	7197	37,5	9044	44,4	<0,0001	12208	40,1	3246	38,2	4984	35,8	<0,0001	
A la radio	9765	18,5	4136	14,2	5629	23,7	<0,0001	2028	15,2	3611	18,8	4126	20,3	<0,0001	5863	19,2	1500	17,7	2402	17,2	<0,0001	
A la télévision	20746	39,2	10396	35,7	10350	43,6	<0,0001	5936	44,5	7346	38,3	7464	36,7	<0,0001	12380	40,7	3655	43,0	4712	33,8	<0,0001	
Chez des amis ou des proches	7412	14,0	3428	11,8	3984	16,8	<0,0001	2168	16,3	2841	14,8	2403	11,8	<0,0001	4021	13,2	1188	14,0	2202	15,8	<0,0001	
A l'école ou à l'Université	9853	18,6	5677	19,5	4176	17,6	<0,0001	4530	34,0	3048	15,9	2275	11,2	<0,0001	2868	9,4	2386	28,1	4598	33,0	<0,0001	
Ailleurs	5471	10,4	2215	7,6	3256	13,7	<0,0001	1731	13,0	2296	12,0	1443	7,1	<0,0001	2762	9,1	1113	13,1	1595	11,4	<0,0001	
Je ne me souviens plus	4589	8,7	1960	6,7	2628	11,1	<0,0001	1255	9,4	1942	10,1	1392	6,8	<0,0001	2557	8,4	598	7,1	1434	10,3	<0,0001	
Je pense que mon taux de vitamine D est trop bas	<0,0001																					
D'accord	12576	23,8	9069	31,2	3507	14,8		3010	22,6	4298	22,4	5268	25,9		7620	25,0	1722	20,3	3233	23,2		
Pas d'accord	15449	29,2	8045	27,6	7404	31,2		4432	33,2	5311	27,7	5706	28,0		7875	25,9	3129	36,9	4444	31,9		
Je ne sais pas	24849	47,0	11998	41,2	12851	54,1		5893	44,2	9583	49,9	9373	46,1		14956	49,1	3638	42,8	6254	44,9		

¹ P pour la comparaison des réponses entre les catégories en utilisant un test de χ^2 .

² P pour la comparaison des réponses entre les catégories en utilisant un test de χ^2 issu de modèles de régression logistique non conditionnelle ajustés sur l'âge (< 35 ans, 35-55 ans, ≥55 ans) et le sexe. Lorsque 3 réponses étaient possibles (ex. "D'accord / Pas d'accord / Je ne sais pas"), des modèles de régression logistique polytomique ajustés sur l'âge et le sexe ont été utilisés.

³ Seuls les participants ayant répondu "Oui" à cette première question avaient accès aux questions suivantes.

Les valeurs en gras sont celles pour lesquelles une différence ≥5% a été observée entre les catégories.

Tableau 7 Sources d'information concernant la vitamine D et opinion vis-à-vis du statut en vitamine D en fonction du revenu et de la prise de médicaments ou de compléments alimentaires contenant de la vitamine D, cohorte NutriNet-Santé, France 2009-2015

	Revenu mensuel par unité de consommation								P ²	Prise de médicaments/compléments à base de vitamine D ¹					
	<1200€		1200-1800€		1800-2700€		≥2700€			Non		Oui		P ²	
	N	%	N	%	N	%	N	%		N	%	N	%		
Avez-vous déjà entendu parler de la vitamine D ?									<0,0001						<0,0001
Oui ³	13754	89,1	15757	93,5	11731	92,9	7710	95,4		46861	91,1	6013	98,8		
Non	972	6,3	796	4,7	508	4,0	236	2,9		2883	5,6	59	1,0		
Je ne sais pas	708	4,6	303	1,8	386	3,1	139	1,7		1678	3,3	15	0,3		
Chez qui ou comment en avez-vous entendu parler ? (choix multiples)															
Chez votre médecin	5599	40,7	6229	39,5	4762	40,6	2938	38,1	<0,0001	17074	36,4	4393	73,1	<0,0001	
Chez un autre professionnel de santé	2074	15,1	2036	12,9	1508	12,9	1022	13,3	<0,0001	6394	13,6	963	16,0	0,0001	
Dans un quotidien d'information	3549	25,8	4062	25,8	3140	26,8	2148	27,9	0,1	12397	26,5	1445	24,0	0,01	
Dans un magazine	4784	34,8	6190	39,3	4695	40,0	3285	42,6	<0,0001	18192	38,8	2245	37,3	<0,0001	
A la radio	2106	15,3	3008	19,1	2192	18,7	1684	21,8	<0,0001	8855	18,9	910	15,1	<0,0001	
A la télévision	5707	41,5	6532	41,5	4404	37,5	2469	32,0	<0,0001	18819	40,2	1927	32,1	<0,0001	
Chez des amis ou des proches	2003	14,6	1869	11,9	1767	15,1	1292	16,8	<0,0001	6714	14,3	698	11,6	0,1	
A l'école ou à l'Université	2588	18,8	2645	16,8	2019	17,2	1744	22,6	<0,0001	9098	19,4	754	12,5	<0,0001	
Ailleurs	1842	13,4	1316	8,4	1159	9,9	843	10,9	<0,0001	4771	10,2	699	11,6	<0,0001	
Je ne me souviens plus	1041	7,6	1436	9,1	1099	9,4	723	9,4	<0,0001	4362	9,3	227	3,8	<0,0001	
Je pense que mon taux de vitamine D est trop bas									<0,0001						<0,0001
D'accord	3347	24,3	3773	24,0	2768	23,6	1614	20,9		9734	20,8	2841	47,3		
Pas d'accord	3747	27,2	4624	29,3	3408	29,1	2613	33,9		13945	29,8	1503	25,0		
Je ne sais pas	6660	48,4	7360	46,7	5554	47,4	3484	45,2		23181	49,5	1668	27,7		

¹ On considère que les participants avaient déjà pris un médicament ou un complément alimentaire contenant de la vitamine D s'ils avaient déclaré prendre un médicament ou un complément alimentaire contenant de la vitamine D dans le questionnaire portant sur la prise de compléments alimentaires ou dans un des questionnaires portant sur l'état de santé avant d'avoir répondu au questionnaire portant sur la connaissance de la vitamine D.

² P pour la comparaison des réponses entre les catégories en utilisant un test de χ^2 issu de modèles de régression logistique non conditionnelle ajustés sur l'âge (< 35 ans, 35-55 ans, ≥55 ans) et le sexe. Lorsque 3 réponses étaient possibles (ex. "D'accord / Pas d'accord / Je ne sais pas"), des modèles de régression logistique polytomique ajustés sur l'âge et le sexe ont été utilisés.

³ Seuls les participants ayant répondu "Oui" à cette première question avaient accès aux questions suivantes.

Les valeurs en gras sont celles pour lesquelles une différence ≥5% a été observée entre les catégories.

Sources de vitamine D (Tableau 8 et Tableau 9)

L'exposition solaire était citée par 72% des participants. Cette source de vitamine D était mieux connue des femmes, des participants avec un plus haut niveau d'étude et de revenu et de ceux ayant un statut suffisant en vitamine D (83% vs. 75% chez ceux avec un statut insuffisant, $P=0,01$, non tabulé).

Soixante-six pour cent citaient les médicaments contenant de la vitamine D, 61% le poisson gras, 55% l'huile de foie de morue et 51% les produits laitiers enrichis en vitamine D. Les femmes avaient une meilleure connaissance de ces sources. Les plus jeunes, ceux avec un plus haut niveau d'étude et de revenu étaient plus susceptibles de citer les produits laitiers enrichis et les médicaments contenant de la vitamine D et moins susceptibles de citer les sources de vitamine D plus « traditionnelles ». Les participants ayant déjà pris des médicaments/compléments alimentaires à base de vitamine D et ceux qui pensaient que leur statut en vitamine D était trop bas avaient une meilleure connaissance globale des sources de vitamine D.

Tandis que ces sources principales de vitamine D n'étaient pas suffisamment citées, les participants citaient également l'huile d'olive (18%), le poisson maigre (11%), les suppléments antioxydants (7%) ou le poulet (4%) comme sources de vitamine D, indiquant une certaine confusion. Six pour cent des participants étaient d'accord avec l'idée que les cabines et les bancs solaires artificiels des salons de bronzage permettaient d'avoir de la vitamine D pendant les mois d'hiver et plus particulièrement les plus jeunes, ceux avec un plus haut niveau d'étude et ceux déclarant une plus forte exposition solaire (9% vs. 5% pour une exposition solaire faible ou modérée, $P<0,0001$, non tabulé) et l'utilisation de cabines et bancs solaires artificiels (9% vs. 5% chez les non utilisateurs, $P<0,0001$, non tabulé).

Rôle de la vitamine D dans différents évènements de santé (Tableau 10 et Tableau 11)

Concernant les issues de santé pour lesquelles un rôle de la vitamine D a été établi de manière consensuelle : seuls 78% des participants ont associé la vitamine D au fait d'avoir des os sains, 74% à l'ostéoporose et 62% au rachitisme. Ces proportions étaient plus élevées chez les femmes, les individus plus âgés et ceux ayant déjà pris des médicaments/compléments alimentaire contenant de la vitamine D. Les participants étaient seulement 40% à attribuer un rôle de la vitamine D pour la grossesse et particulièrement les femmes, les plus jeunes, ceux avec un plus haut niveau d'étude et ceux ayant déjà pris des médicaments/compléments à base de vitamine D.

Tandis que ces rôles établis pour la vitamine D étaient méconnus pour une partie non négligeable des sujets, une proportion importante des participants associaient la vitamine D avec d'autres issues de santé pour lesquelles un consensus n'a pas encore été établi comme les cancers de la peau (35%), les autres maladies de la peau (26%), les cancers en général (25%), les infections (25%) ou les maladies psychiatriques (11%).

Tableau 8 Connaissances des sources de vitamine D en fonction du sexe, de l'âge et du niveau d'étude, cohorte NutriNet-Santé, France 2009-2015

	Tous		Sexe					Age						Niveau d'éducation							
			Femmes		Hommes			< 35 ans		35-55 ans		≥55 ans		< Baccalauréat		<2 ans d'études supérieures		≥2 ans d'études supérieures			
	N	%	N	%	N	%	P ¹	N	%	N	%	N	%	P ¹	N	%	N	%	N	%	P ²
D'où pensez-vous que l'organisme puisse obtenir de la vitamine D ? (choix multiples)																					
Le poisson gras	32476	61,4	19125	65,7	13351,2	56,2	<0,0001	6938	52,0	11403	59,4	14136	69,5	<0,0001	19223	63,1	4965	58,5	8288	59,5	<0,0001
Le poisson maigre	5587	10,6	2808	9,7	2778,71	11,7	<0,0001	1504	11,3	2131	11,1	1952	9,6	<0,0001	3324	10,9	878	10,4	1385	9,9	0,006
L'huile de foie de morue	28930	54,7	17241	59,2	11689,7	49,2	<0,0001	5557	41,7	9898	51,6	13476	66,2	<0,0001	17162	56,4	4406	51,9	7362	52,8	<0,0001
Les produits laitiers ³	16654	31,5	9525	32,7	7129,54	30,0	<0,0001	4350	32,6	5495	28,6	6809	33,5	<0,0001	9566	31,4	2826	33,3	4262	30,6	0,0001
Les produits laitiers enrichis en vitamine D ³	27063	51,2	15995	54,9	11067,6	46,6	<0,0001	7834	58,8	9138	47,6	10091	49,6	<0,0001	14587	47,9	4678	55,1	7798	56,0	<0,0001
Le poulet	2291	4,3	959	3,3	1331,67	5,6	<0,0001	891	6,7	648	3,4	752	3,7	<0,0001	1367	4,5	504	5,9	419	3,0	<0,0001
La viande rouge	3425	6,5	2026	7,0	1399,17	5,9	<0,0001	774	5,8	1368	7,1	1283	6,3	<0,0001	2200	7,2	529	6,2	695	5,0	<0,0001
Les abats d'animaux	12347	23,4	7760	26,7	4586,95	19,3	<0,0001	2027	15,2	4566	23,8	5753	28,3	<0,0001	7459	24,5	1872	22,0	3016	21,7	<0,0001
Les œufs	12109	22,9	7116	24,5	4992,83	21,0	<0,0001	2487	18,7	4255	22,2	5368	26,4	<0,0001	7158	23,5	1908	22,5	3044	21,9	0,0003
L'huile d'olive	9730	18,4	5283	18,2	4447,12	18,7	0,09	2121	15,9	3214	16,7	4395	21,6	<0,0001	6035	19,8	1651	19,4	2044	14,7	<0,0001
Les suppléments antioxydants	3850	7,3	2299	7,9	1551,48	6,5	<0,0001	935	7,0	1421	7,4	1494	7,3	0,4	2500	8,2	574	6,8	776	5,6	<0,0001
Les suppléments vitaminiques	14089	26,7	8358	28,7	5731,02	24,1	<0,0001	5155	38,7	5042	26,3	3891	19,1	<0,0001	6660	21,9	2653	31,3	4775	34,3	<0,0001
Les médicaments à base de vitamine D	32623	61,7	19730	67,8	12893,7	54,3	<0,0001	8248	61,9	11311	58,9	13065	64,2	<0,0001	17879	58,7	5421	63,9	9323	66,9	<0,0001
L'exposition de la peau au soleil	37910	71,7	22662	77,9	15248,1	64,2	<0,0001	9742	73,1	13422	69,9	14747	72,5	<0,0001	20674	67,9	6349	74,8	10886	78,1	<0,0001
Je ne sais pas	4443	8,4	1432	4,9	3011,12	12,7	<0,0001	1413	10,6	1711	8,9	1319	6,5	<0,0001	2956	9,7	599	7,1	889	6,4	<0,0001
Les cabines et bancs solaires artificiels des salons de bronzage permettent d'avoir de la vitamine D pendant les mois d'hiver																					
D'accord	3107	5,9	1508	5,2	1600	6,7		1060	8,0	1097	5,7	950	4,7		1505	4,9	626	7,4	976	7,0	
Pas d'accord	29565	55,9	17551	60,3	12015	50,6		7705	57,8	10341	53,9	11520	56,6		16565	54,4	5145	60,6	7855	56,4	
Je ne sais pas	20200	38,2	10053	34,5	10147	42,7		4569	34,3	7754	40,4	7878	38,7		12381	40,7	2719	32,0	5101	36,6	

¹ P pour la comparaison des réponses entre les catégories en utilisant un test de χ^2 .

² P pour la comparaison des réponses entre les catégories en utilisant un test de χ^2 issu de modèles de régression logistique non conditionnelle ajustés sur l'âge (< 35 ans, 35-55 ans, ≥55 ans) et le sexe. Lorsque 3 réponses étaient possibles (ex. "D'accord / Pas d'accord / Je ne sais pas"), des modèles de régression logistique polytomique ajustés sur l'âge et le sexe ont été utilisés.

³ En France, l'enrichissement en vitamine D des aliments est autorisée mais facultative.

Les valeurs en gras sont celles pour lesquelles une différence ≥5% a été observée entre les catégories.

Tableau 9 Connaissances des sources de vitamine D en fonction du revenu et de la prise de médicaments ou de compléments alimentaires contenant de la vitamine D, cohorte NutriNet-Santé, France 2009-2015

	Revenu mensuel par unité de consommation								Prise de médicaments/compléments à base de vitamine D ¹						
	<1200€		1200-1800€		1800-2700€		≥2700€		P ²	Non		Oui		P ²	
	N	%	N	%	N	%	N	%		N	%	N	%		
D'où pensez-vous que l'organisme puisse obtenir de la vitamine D ? (choix multiples)															
Le poisson gras	7749	56,3	9728	61,7	7554	64,4	4979	64,6	<0,0001	28085	59,9	4391	73,0	<0,0001	
Le poisson maigre	1633	11,9	1541,2	9,8	1152,4	9,8	776,2	10,1	<0,0001	5084	10,9	503	8,4	<0,0001	
L'huile de foie de morue	6814	49,5	8346	53,0	7067	60,2	4606	59,7	<0,0001	24676	52,7	4254	70,8	<0,0001	
Les produits laitiers ³	4236	30,8	5014,1	31,8	3558,9	30,3	2425,8	31,5	<0,0001	14649	31,3	2005	33,4	0,3	
Les produits laitiers enrichis en vitamine D ³	6820	49,6	8034	51,0	5746	49,0	4192	54,4	<0,0001	23353	49,8	3710	61,7	<0,0001	
Le poulet	474	3,5	720,3	4,6	468,0	4,0	381,8	5,0	<0,0001	2025	4,3	266	4,4	0,0005	
La viande rouge	1028	7,5	956,8	6,1	685,6	5,8	393,0	5,1	<0,0001	3151	6,7	273	4,6	<0,0001	
Les abats d'animaux	3144	22,9	3661,6	23,2	2944,2	25,1	1772,2	23,0	<0,0001	10582	22,6	1765	29,4	<0,0001	
Les œufs	2928	21,3	3662,8	23,3	2688,8	22,9	1922,1	24,9	0,0005	10475	22,4	1634	27,2	<0,0001	
L'huile d'olive	2572	18,7	2977,0	18,9	2174,4	18,5	1293,9	16,8	<0,0001	8708	18,6	1022	17,0	<0,0001	
Les suppléments antioxydants	1294	9,4	1058,3	6,7	689,8	5,9	468,7	6,1	<0,0001	3141	6,7	709	11,8	<0,0001	
Les suppléments vitaminiques	4057	29,5	3858	24,5	2978	25,4	1992	25,8	<0,0001	12059	25,7	2030	33,8	<0,0001	
Les médicaments à base de vitamine D	8021	58,3	9798	62,2	7188	61,3	5176	67,1	<0,0001	27788	59,3	4836	80,4	<0,0001	
L'exposition de la peau au soleil	9608	69,9	11100	70,5	8404	71,6	5828	75,6	<0,0001	32788	70,0	5123	85,2	<0,0001	
Je ne sais pas	1528	11,1	1319	8,4	795	6,8	446	5,8	<0,0001	4318	9,2	125	2,1	<0,0001	
Les cabines et bancs solaires artificiels des salons de bronzage permettent d'avoir de la vitamine D pendant les mois d'hiver									<0,0001						<0,0001
D'accord	763	5,6	917	5,8	663	5,7	553	7,2		2788	6,0	320	5,3		
Pas d'accord	7529	54,7	8813	55,9	6772	57,7	4377	56,8		25924	55,3	3642	60,6		
Je ne sais pas	5462	39,7	6027	38,3	4295	36,6	2780	36,1		18150	38,7	2051	34,1		

¹ On considère que les participants avaient déjà pris un médicament ou un complément alimentaire contenant de la vitamine D s'ils avaient déclaré prendre un médicament ou un complément alimentaire contenant de la vitamine D dans le questionnaire portant sur la prise de compléments alimentaires ou dans un des questionnaires portant sur l'état de santé avant d'avoir répondu au questionnaire portant sur la connaissance de la vitamine D.

² P pour la comparaison des réponses entre les catégories en utilisant un test de χ^2 issu de modèles de régression logistique non conditionnelle ajustés sur l'âge (< 35 ans, 35-55 ans, ≥55 ans) et le sexe. Lorsque 3 réponses étaient possibles (ex. "D'accord / Pas d'accord / Je ne sais pas"), des modèles de régression logistique polytomique ajustés sur l'âge et le sexe ont été utilisés.

³ En France, l'enrichissement en vitamine D des aliments est autorisée mais facultative.

Les valeurs en gras sont celles pour lesquelles une différence ≥5% a été observée entre les catégories.

Tableau 10 Croyances vis-à-vis des effets santé de la vitamine D en fonction du sexe, de l'âge et du niveau d'étude, cohorte NutriNet-Santé, France 2009-2015

	Tous		Sexe				Age						Niveau d'éducation						P ²		
			Femmes		Hommes		< 35 ans		35-55 ans		≥55 ans		< Baccalauréat		<2 ans d'études supérieures		≥2 ans d'études supérieures				
	N	%	N	%	N	%	P ¹	N	%	N	%	N	%	P ¹	N	%	N	%		N	%
Selon vous, la vitamine D a-t-elle un intérêt dans les états de santé suivants ?																					
Avoir des os sains							<0,0001							<0,0001							<0,0001
Oui	41311	78,1	24761	85,1	16551	69,7		9945	74,6	14146	73,7	17220	84,6		23937	78,6	6633	78,1	10741	77,1	
Non	1942	3,7	777	2,7	1165	4,9		621	4,7	854	4,5	468	2,3		1001	3,3	421	5,0	521	3,7	
Je ne sais pas	9619	18,2	3574	12,3	6046	25,4		2768	20,8	4192	21,8	2659	13,1		5513	18,1	1436	16,9	2670	19,2	
L'ostéoporose							<0,0001							<0,0001							<0,0001
Oui	39166	74,1	24386	83,8	14780	62,2		9030	67,7	13374	69,7	16762	82,4		22825	75,0	6153	72,5	10188	73,1	
Non	1695	3,2	694	2,4	1001	4,2		392	2,9	836	4,4	467	2,3		890	2,9	337	4,0	468	3,4	
Je ne sais pas	12012	22,7	4032	13,9	7981	33,6		3913	29,3	4981	26,0	3118	15,3		6736	22,1	2000	23,6	3276	23,5	
Le rachitisme							<0,0001							<0,0001							0,4
Oui	32906	62,2	20502	70,4	12404	52,2		6418	48,1	11612	60,5	14876	73,1		18972	62,3	5285	62,3	8649	62,1	
Non	2785	5,3	1298	4,5	1488	6,3		693	5,2	1289	6,7	803	4,0		1645	5,4	419	4,9	721	5,2	
Je ne sais pas	17182	32,5	7312	25,1	9870	41,5		6223	46,7	6291	32,8	4668	22,9		9834	32,3	2786	32,8	4562	32,7	
Le cancer en général							<0,0001							<0,0001							0,0006
Oui	13081	24,7	6942	23,8	6140	25,8		3335	25,0	4990	26,0	4756	23,4		7445	24,5	2238	26,4	3397	24,4	
Non	7840	14,8	4363	15,0	3477	14,6		2095	15,7	2531	13,2	3214	15,8		4474	14,7	1297	15,3	2069	14,9	
Je ne sais pas	31952	60,4	17807	61,2	14145	59,5		7904	59,3	11671	60,8	12377	60,8		18531	60,9	4955	58,4	8466	60,8	
Les cancers de la peau							<0,0001							<0,0001							<0,0001
Oui	17375	32,9	8849	30,4	8527	35,9		4645	34,8	6208	32,4	6522	32,1		9986	32,8	2874	33,9	4516	32,4	
Non	6640	12,6	3652	12,5	2988	12,6		1583	11,9	2440	12,7	2617	12,9		3976	13,1	931	11,0	1733	12,4	
Je ne sais pas	28858	54,6	16611	57,1	12247	51,5		7106	53,3	10544	54,9	11208	55,1		16489	54,2	4685	55,2	7684	55,2	
Les autres maladies de la peau							<0,0001							<0,0001							0,4
Oui	13727	26,0	7136	24,5	6592	27,7		3811	28,6	5156	26,9	4760	23,4		7847	25,8	2214	26,1	3666	26,3	
Non	6536	12,4	3740	12,9	2796	11,8		1573	11,8	2341	12,2	2622	12,9		3830	12,6	1011	11,9	1695	12,2	
Je ne sais pas	32610	61,7	18235	62,6	14375	60,5		7949	59,6	11695	60,9	12965	63,7		18774	61,7	5265	62,0	8571	61,5	
Les maladies du rein							<0,0001							<0,0001							<0,0001
Oui	3423	6,5	1808	6,2	1615	6,8		1353	10,2	1124	5,9	945	4,6		1566	5,1	746	8,8	1110	8,0	
Non	11062	20,9	6356	21,8	4706	19,8		2475	18,6	4019	20,9	4568	22,5		6570	21,6	1697	20,0	2796	20,1	
Je ne sais pas	38388	72,6	20947	72,0	17441	73,4		9506	71,3	14048	73,2	14834	72,9		22315	73,3	6047	71,2	10026	72,0	

La maladie d'Alzheimer							<0,0001							<0,0001							0,0001
Oui	3566	6,7	2126	7,3	1440	6,1		984	7,4	1211	6,3	1370	6,7		2137	7,0	580	6,8	849	6,1	
Non	12306	23,3	7118	24,5	5188	21,8		3048	22,9	4336	22,6	4922	24,2		6957	22,9	2079	24,5	3270	23,5	
Je ne sais pas	37002	70,0	19868	68,3	17134	72,1		9302	69,8	13645	71,1	14055	69,1		21357	70,1	5832	68,7	9813	70,4	
Le diabète							<0,0001							<0,0001							<0,0001
Oui	4617	8,7	2331	8,0	2287	9,6		1264	9,5	1467	7,6	1886	9,3		2821	9,3	743	8,8	1054	7,6	
Non	13966	26,4	7883	27,1	6083	25,6		3840	28,8	4912	25,6	5214	25,6		7640	25,1	2493	29,4	3833	27,5	
Je ne sais pas	34290	64,9	18898	64,9	15392	64,8		8230	61,7	12813	66,8	13247	65,1		19989	65,7	5255	61,9	9045	64,9	
Les maladies du cœur							0,0009							<0,0001							<0,0001
Oui	4104	7,8	2167	7,4	1937	8,2		1048	7,9	1371	7,1	1685	8,3		2461	8,1	672	7,9	971	7,0	
Non	13795	26,1	7732	26,6	6063	25,5		3687	27,7	4748	24,7	5360	26,3		7619	25,0	2420	28,5	3756	27,0	
Je ne sais pas	34974	66,2	19212	66,0	15762	66,3		8599	64,5	13073	68,1	13302	65,4		20370	66,9	5398	63,6	9205	66,1	
Les maladies psychiatriques							0,0023							<0,0001							<0,0001
Oui	5755	10,9	3280	11,3	2475	10,4		1880	14,1	2194	11,4	1680	8,3		3020	9,9	1041	12,3	1694	12,2	
Non	14053	26,6	7779	26,7	6274	26,4		3698	27,7	4909	25,6	5447	26,8		8064	26,5	2322	27,4	3667	26,3	
Je ne sais pas	33065	62,5	18052	62,0	15013	63,2		7757	58,2	12089	63,0	13220	65,0		19367	63,6	5127	60,4	8571	61,5	
Les infections en général							<0,0001							<0,0001							<0,0001
Oui	13439	25,4	7540	25,9	5899	24,8		3260	24,5	5093	26,5	5085	25,0		7859	25,8	2294	27,0	3285	23,6	
Non	9904	18,7	5577	19,2	4326	18,2		2448	18,4	3453	18,0	4003	19,7		5646	18,5	1576	18,6	2681	19,2	
Je ne sais pas	29531	55,9	15994	54,9	13537	57,0		7626	57,2	10645	55,5	11260	55,3		16945	55,7	4620	54,4	7966	57,2	
La grossesse							<0,0001							<0,0001							<0,0001
Oui	21109	39,9	14294	49,1	6815	28,7		6467	48,5	7982	41,6	6661	32,7		11326	37,2	3736	44,0	6048	43,4	
Non	6328	12,0	3058	10,5	3270	13,8		1482	11,1	2040	10,6	2805	13,8		3865	12,7	1016	12,0	1447	10,4	
Je ne sais pas	25436	48,1	11760	40,4	13677	57,6		5385	40,4	9170	47,8	10881	53,5		15261	50,1	3738	44,0	6438	46,2	
Aucun effet sur la santé							<0,0001							<0,0001							<0,0001
Oui	3314	6,3	2087	7,2	1228	5,2		322	2,4	900	4,7	2093	10,3		2645	8,7	324	3,8	346	2,5	
Non	34989	66,2	19741	67,8	15248	64,2		10317	77,4	12576	65,5	12096	59,5		17695	58,1	6336	74,6	10958	78,7	
Je ne sais pas	14570	27,6	7284	25,0	7286	30,7		2696	20,2	5716	29,8	6159	30,3		10111	33,2	1831	21,6	2629	18,9	

¹ P pour la comparaison des réponses entre les catégories en utilisant un test de χ^2 .

² P pour la comparaison des réponses entre les catégories en utilisant un test de χ^2 issu de modèles de régression logistique non conditionnelle ajustés sur l'âge (< 35 ans, 35-55 ans, ≥55 ans) et le sexe. Lorsque 3 réponses étaient possibles (ex. "D'accord / Pas d'accord / Je ne sais pas"), des modèles de régression logistique polytomique ajustés sur l'âge et le sexe ont été utilisés.

Les valeurs en gras sont celles pour lesquelles une différence ≥5% a été observée entre les catégories.

Tableau 11 Croyances vis-à-vis des effets santé de la vitamine D en fonction du revenu et de la prise de médicaments ou de compléments alimentaires contenant de la vitamine D, cohorte NutriNet-Santé, France 2009-2015

	Revenu mensuel par unité de consommation								Prise de médicaments/compléments à base de vitamine D ¹					
	<1200€		1200-1800€		1800-2700€		≥2700€		P ²	Non		Oui		P ²
	N	%	N	%	N	%	N	%		N	%	N	%	
Selon vous, la vitamine D a-t-elle un intérêt dans les états de santé suivants ?														
Avoir des os sains									<0,0001					<0,0001
Oui	10687	77,7	12148,2	77,1	9227,4	78,7	5983	77,6		35850	76,5	5462	90,8	
Non	530	3,9	630	4,0	374	3,2	310	4,0		1847	3,9	96	1,6	
Je ne sais pas	2537	18,5	2979	18,9	2129	18,2	1418	18,4		9164	19,6	455	7,6	
L'ostéoporose									<0,0001					<0,0001
Oui	9859	71,7	11582	73,5	8833	75,3	5852	75,9		33678	71,9	5488	91,3	
Non	421	3,1	534	3,4	341	2,9	247	3,2		1634	3,5	61	1,0	
Je ne sais pas	3474	25,3	3641	23,1	2557	21,8	1611	20,9		11548	24,6	464	7,7	
Le rachitisme									<0,0001					<0,0001
Oui	7766	56,5	9805	62,2	7793	66,4	5230	67,8		28327	60,5	4579	76,2	
Non	725	5,3	987	6,3	508	4,3	397	5,2		2613	5,6	172	2,9	
Je ne sais pas	5263	38,3	4965	31,5	3429	29,2	2084	27,0		15920	34,0	1261	21,0	
Le cancer en général									<0,0001					<0,0001
Oui	3668	26,7	3674,5	23,3	3048,9	26,0	1799,1	23,3		11504	24,6	1578	26,2	
Non	2105	15,3	2255	14,3	1756	15,0	1236	16,0		6832	14,6	1008	16,8	
Je ne sais pas	7981	58,0	9828	62,4	6926	59,0	4675	60,6		28525	60,9	3427	57,0	
Les cancers de la peau									<0,0001					<0,0001
Oui	4595	33,4	5036,6	32,0	3800,5	32,4	2526,2	32,8		15680	33,5	1696	28,2	
Non	1685	12,3	1853	11,8	1670	14,2	1068	13,9		5709	12,2	931	15,5	
Je ne sais pas	7473	54,3	8868	56,3	6260	53,4	4117	53,4		25472	54,4	3386	56,3	
Les autres maladies de la peau									<0,0001					<0,0001
Oui	3599	26,2	3886,7	24,7	2977,1	25,4	2131,2	27,6		12595	26,9	1132	18,8	
Non	1660	12,1	1831	11,6	1614	13,8	1064	13,8		5525	11,8	1011	16,8	
Je ne sais pas	8495	61,8	10039	63,7	7139	60,9	4515	58,6		28741	61,3	3869	64,3	
Les maladies du rein									<0,0001					<0,0001
Oui	1051	7,6	890,3	5,7	650,3	5,5	535,8	7,0		3030	6,5	393	6,5	
Non	2549	18,5	3441	21,8	2591	22,1	1757	22,8		9575	20,4	1487	24,7	
Je ne sais pas	10154	73,8	11426	72,5	8489	72,4	5417	70,3		34256	73,1	4132	68,7	

La maladie d'Alzheimer									<0,0001				<0,0001
Oui	1094	8,0	966	6,1	743	6,3	424	5,5		3115	6,7	451	7,5
Non	2938	21,4	3787	24,0	2796	23,8	2018	26,2		10709	22,9	1597	26,6
Je ne sais pas	9721	70,7	11004	69,8	8191	69,8	5268	68,3		33037	70,5	3965	65,9
Le diabète									<0,0001				<0,0001
Oui	1337	9,7	1198,6	7,6	1050,7	9,0	569,2	7,4		4179	8,9	438	7,3
Non	3467	25,2	4184	26,6	3201	27,3	2234	29,0		12068	25,8	1898	31,6
Je ne sais pas	8950	65,1	10374	65,8	7479	63,8	4907	63,7		30614	65,3	3676	61,1
Les maladies du cœur									<0,0001				<0,0001
Oui	1103	8,0	1237,8	7,9	822,6	7,0	574,5	7,5		3679	7,9	425	7,1
Non	3370	24,5	4096	26,0	3190	27,2	2271	29,5		11923	25,4	1872	31,1
Je ne sais pas	9281	67,5	10423	66,2	7718	65,8	4865	63,1		31258	66,7	3716	61,8
Les maladies psychiatriques									<0,0001				<0,0001
Oui	1608	11,7	1647,0	10,5	1225,7	10,5	780,0	10,1		4874	10,4	881	14,7
Non	3730	27,1	4020	25,5	3109	26,5	2237	29,0		12424	26,5	1630	27,1
Je ne sais pas	8416	61,2	10090	64,0	7396	63,1	4694	60,9		29563	63,1	3502	58,3
Les infections en général									<0,0001				<0,0001
Oui	3857	28,0	4061	25,8	2787	23,8	1735	22,5		11581	24,7	1858	30,9
Non	2398	17,4	2973	18,9	2214	18,9	1709	22,2		8729	18,6	1175	19,5
Je ne sais pas	7499	54,5	8722	55,4	6729	57,4	4267	55,3		26551	56,7	2980	49,6
La grossesse									<0,0001				<0,0001
Oui	6332	46,0	6116	38,8	4429	37,8	2625	34,0		18377	39,2	2732	45,4
Non	1640	11,9	1812	11,5	1336	11,4	1151	14,9		5462	11,7	866	14,4
Je ne sais pas	5782	42,0	7829	49,7	5966	50,9	3935	51,0		23021	49,1	2415	40,2
Aucun effet sur la santé									<0,0001				<0,0001
Oui	797	5,8	1058,1	6,7	656,2	5,6	471,8	6,1		2792	6,0	523	8,7
Non	8802	64,0	10099	64,1	8072	68,8	5569	72,2		30703	65,5	4286	71,3
Je ne sais pas	4155	30,2	4599	29,2	3002	25,6	1670	21,7		13366	28,5	1204	20,0

¹ On considère que les participants avaient déjà pris un médicament ou un complément alimentaire contenant de la vitamine D s'ils avaient déclaré prendre un médicament ou un complément alimentaire contenant de la vitamine D dans le questionnaire portant sur la prise de compléments alimentaires ou dans un des questionnaires portant sur l'état de santé avant d'avoir répondu au questionnaire portant sur la connaissance de la vitamine D.

² P pour la comparaison des réponses entre les catégories en utilisant un test de χ^2 issu de modèles de régression logistique non conditionnelle ajustés sur l'âge (< 35 ans, 35-55 ans, ≥55 ans) et le sexe. Lorsque 3 réponses étaient possibles (ex. "D'accord / Pas d'accord / Je ne sais pas"), des modèles de régression logistique polytomique ajustés sur l'âge et le sexe ont été utilisés.

Les valeurs en gras sont celles pour lesquelles une différence ≥5% a été observée entre les catégories.

Connaissances et croyances à propos de la vitamine D selon la source d'information (Tableau 12)

Les participants ayant entendu parler de la vitamine D chez leur médecin étaient plus susceptibles de donner des réponses correctes : meilleure connaissance des sources de vitamine D et des effets santé établis. Les participants ayant entendu parler de la vitamine D chez un autre professionnel de santé (ex. pharmacien, diététicien, dentiste, infirmier) ou à l'école/Université ont également donné des réponses correctes pour les sources de vitamine D et les effets santé établis. Cependant ils étaient également plus susceptibles d'associer la vitamine D à d'autres issues de santé pour lesquelles il n'existe pas de consensus. Enfin les participants ayant entendu parler de la vitamine D dans les médias étaient également plus nombreux à citer des effets santé non établis pour la vitamine D.

Tous les résultats présentés restaient significatifs après prise en compte d'un ajustement pour les tests multiples (correction de Bonferroni).

Tableau 12 Connaissances des sources de vitamine D et croyances vis-à-vis des effets santé de la vitamine D en fonction de la source d'information concernant la vitamine D, cohorte NutriNet-Santé, France 2009-2015

	Chez votre médecin					Chez un autre professionnel de la santé					Dans les médias (Quotidien d'information, magazine, radio, télévision)					A l'école ou à l'Université				
	Non		Oui		P ¹	Non		Oui		P ¹	Non		Oui		P ¹	Non		Oui		P ¹
	N	%	N	%		N	%	N	%		N	%	N	%		N	%	N	%	
D'où pensez-vous que l'organisme puisse obtenir de la vitamine D ? (choix multiples)																				
Le poisson gras	18098	57,6	14379	67,0	<0,0001	27328	60,0	5148	70,0	<0,0001	11599	58,7	20877	63,1	<0,0001	26134	60,8	6342	64,4	<0,0001
Le poisson maigre	3317	10,6	2270	10,6	0,01	4648	10,2	939	12,8	<0,0001	1917	9,7	3670	11,1	<0,0001	4437	10,3	1150	11,7	0,001
L'huile de foie de morue	15966	50,8	12964	60,4	<0,0001	24255	53,3	4676	63,6	<0,0001	10374	52,5	18556	56,1	<0,0001	22865	53,2	6065	61,6	<0,0001
Les produits laitiers ³	9857	31,4	6798	31,7	0,3	14006	30,8	2648	36,0	<0,0001	5464	27,6	11191	33,8	<0,0001	12597	29,3	4057	41,2	<0,0001
Les produits laitiers enrichis en vitamine D ³	15274	48,6	11789	54,9	<0,0001	22463	49,4	4599	62,5	<0,0001	9250	46,8	17813	53,8	<0,0001	20455	47,6	6608	67,1	<0,0001
Le poulet	1360	4,3	931	4,3	<0,0001	1864	4,1	427	5,8	<0,0001	687	3,5	1603	4,8	<0,0001	1837	4,3	454	4,6	0,1
La viande rouge	2024	6,4	1401	6,5	0,3	2938	6,5	487	6,6	0,7	1153	5,8	2272	6,9	<0,0001	2711	6,3	714	7,3	<0,0001
Les abats d'animaux	6872	21,9	5475	25,5	0,2	10176	22,4	2170	29,5	<0,0001	4152	21,0	8194	24,8	<0,0001	9753	22,7	2593	26,3	<0,0001
Les œufs	7145	22,8	4964	23,1	0,0006	10209	22,4	1900	25,8	<0,0001	3616	18,3	8493	25,7	<0,0001	9524	22,1	2585	26,2	<0,0001
L'huile d'olive	5776	18,4	3953	18,4	0,2	7861	17,3	1869	25,4	<0,0001	2761	14,0	6969	21,1	<0,0001	7895	18,4	1835	18,6	0,0006
Les suppléments antioxydants	2052	6,5	1798	8,4	<0,0001	3123	6,9	727	9,9	<0,0001	1070	5,4	2781	8,4	<0,0001	3169	7,4	682	6,9	0,1
Les suppléments vitaminiques	8267	26,3	5822	27,1	<0,0001	11463	25,2	2625	35,7	<0,0001	4889	24,7	9200	27,8	<0,0001	10063	23,4	4025	40,9	<0,0001
Les médicaments à base de vitamine D	17007	54,2	15616	72,7	<0,0001	27249	59,9	5375	73,1	<0,0001	12181	61,6	20442	61,8	0,003	25391	59,0	7232	73,4	<0,0001
L'exposition de la peau au soleil	21439	68,3	16472	76,7	<0,0001	32173	70,7	5738	78,0	<0,0001	14018	70,9	23892	72,2	<0,0001	29596	68,8	8315	84,4	<0,0001
Je ne sais pas	3407	10,9	1036	4,8	<0,0001	4142	9,1	301	4,1	<0,0001	1990	10,1	2453	7,4	<0,0001	4164	9,7	279	2,8	<0,0001
Les cabines et bancs solaires artificiels des salons de bronzage permettent d'avoir de la vitamine D pendant les mois d'hiver						<0,0001						<0,0001						<0,0001		
D'accord	2004	6,4	1104	5,1		2644	5,8	464	6,3		1089	5,5	2018	6,1		2231	5,2	876	8,9	
Pas d'accord	16870	53,7	12696	59,1		25031	55,0	4534	61,6		10727	54,3	18838	56,9		23534	54,7	6031	61,2	

Je ne sais pas	12532	39,9	7668	35,7		17841	39,2	2359	32,1		7959	40,2	12242	37,0		17255	40,1	2945	29,9
Je pense que mon taux de vitamine D est trop bas					<0,0001					<0,0001					<0,0001				<0,0001
D'accord	4627	14,7	7949	37,0		10607	23,3	1969	26,8		5797	29,3	6779	20,5		10551	24,5	2025	20,6
Pas d'accord	9739	31,0	5710	26,6		13127	28,8	2322	31,6		5376	27,2	10073	30,4		11496	26,7	3952	40,1
Je ne sais pas	17040	54,3	7809	36,4		21782	47,9	3066	41,7		8603	43,5	16246	49,1		20973	48,8	3875	39,3
Selon vous, la vitamine D a-t-elle un intérêt dans les états de santé suivants ?																			
Avoir des os sains					<0,0001					<0,0001					<0,0001				<0,0001
Oui	23173	73,8	18138	84,5		35070	77,1	6242	84,8		15109	76,4	26202	79,2		32641	75,9	8670	88,0
Non	1093	3,5	849	4,0		1675	3,7	267	3,6		867	4,4	1075	3,3		1655	3,9	287	2,9
Je ne sais pas	7140	22,7	2480	11,6		8771	19,3	848	11,5		3799	19,2	5821	17,6		8724	20,3	895	9,1
L'ostéoporose					<0,0001					<0,0001					<0,0001				<0,0001
Oui	21471	68,4	17694	82,4		33069	72,7	6097	82,9		14529	73,5	24637	74,4		30674	71,3	8492	86,2
Non	1103	3,5	592	2,8		1493	3,3	202	2,7		651	3,3	1044	3,2		1443	3,4	252	2,6
Je ne sais pas	8831	28,1	3181	14,8		10954	24,1	1058	14,4		4596	23,2	7417	22,4		10904	25,3	1109	11,3
Le rachitisme					<0,0001					<0,0001					0,002				<0,0001
Oui	18011	57,4	14895	69,4		27633	60,7	5273	71,7		12336	62,4	20571	62,2		25475	59,2	7431	75,4
Non	1882	6,0	903	4,2		2475	5,4	311	4,2		967	4,9	1819	5,5		2331	5,4	454	4,6
Je ne sais pas	11513	36,7	5669	26,4		15408	33,9	1773	24,1		6473	32,7	10709	32,4		15214	35,4	1968	20,0
Le cancer en général					<0,0001					<0,0001					<0,0001				<0,0001
Oui	7964	25,4	5117	23,8		11009	24,2	2072	28,2		4188	21,2	8893	26,9		10204	23,7	2877	29,2
Non	4402	14,0	3438	16,0		6679	14,7	1161	15,8		3089	15,6	4751	14,4		6053	14,1	1787	18,1
Je ne sais pas	19039	60,6	12913	60,2		27829	61,1	4123	56,1		12498	63,2	19454	58,8		26763	62,2	5189	52,7
Les cancers de la peau					<0,0001					<0,0001					<0,0001				<0,0001
Oui	10682	34,0	6693	31,2		14490	31,8	2886	39,2		5626	28,5	11750	35,5		13590	31,6	3785	38,4
Non	3699	11,8	2941	13,7		5661	12,4	979	13,3		2741	13,9	3899	11,8		5097	11,9	1543	15,7
Je ne sais pas	17025	54,2	11833	55,1		25365	55,7	3493	47,5		11409	57,7	17449	52,7		24334	56,6	4524	45,9
Les autres maladies de la peau					<0,0001					<0,0001					<0,0001				<0,0001
Oui	8553	27,2	5174	24,1		11330	24,9	2397	32,6		4239	21,4	9488	28,7		10593	24,6	3134	31,8
Non	3666	11,7	2870	13,4		5555	12,2	981	13,3		2666	13,5	3871	11,7		5043	11,7	1493	15,2
Je ne sais pas	19187	61,1	13423	62,5		28631	62,9	3979	54,1		12871	65,1	19739	59,6		27384	63,7	5225	53,0
Les maladies du rein					0,0002					<0,0001					0,3				<0,0001
Oui	2049	6,5	1374	6,4		2698	5,9	724	9,9		1333	6,7	2090	6,3		2011	4,7	1411	14,3
Non	6340	20,2	4722	22,0		9496	20,9	1566	21,3		4128	20,9	6934	21,0		8707	20,2	2356	23,9
Je ne sais pas	23016	73,3	15372	71,6		33322	73,2	5067	68,9		14314	72,4	24074	72,7		32303	75,1	6085	61,8

La maladie d'Alzheimer					<0,0001					<0,0001									<0,0001
Oui	1975	6,3	1591	7,4		2900	6,4	666	9,1		1246	6,3	2319	7,0		2636	6,1	930	9,4
Non	7140	22,7	5165	24,1		10493	23,1	1812	24,6		4540	23,0	7765	23,5		9326	21,7	2980	30,2
Je ne sais pas	22291	71,0	14711	68,5		32123	70,6	4879	66,3		13989	70,7	23013	69,5		31059	72,2	5943	60,3
Le diabète					<0,0001					<0,0001					0,0002				<0,0001
Oui	2669	8,5	1948	9,1		3738	8,2	879	12,0		1616	8,2	3002	9,1		3388	7,9	1229	12,5
Non	8166	26,0	5799	27,0		11987	26,3	1979	26,9		5134	26,0	8832	26,7		10522	24,5	3444	35,0
Je ne sais pas	20570	65,5	13720	63,9		29791	65,5	4499	61,2		13026	65,9	21264	64,3		29111	67,7	5179	52,6
Les maladies du cœur					<0,0001					<0,0001					<0,0001				<0,0001
Oui	2288	7,3	1816	8,5		3185	7,0	919	12,5		1352	6,8	2752	8,3		3121	7,3	983	10,0
Non	8112	25,8	5684	26,5		11815	26,0	1981	26,9		4981	25,2	8814	26,6		10489	24,4	3306	33,6
Je ne sais pas	21006	66,9	13968	65,1		30516	67,1	4457	60,6		13442	68,0	21532	65,1		29410	68,4	5564	56,5
Les maladies psychiatriques					<0,0001					<0,0001					<0,0001				<0,0001
Oui	3214	10,2	2541	11,8		4711	10,4	1043	14,2		1769	9,0	3985	12,0		4405	10,2	1349	13,7
Non	8110	25,8	5943	27,7		12030	26,4	2024	27,5		5251	26,6	8802	26,6		10689	24,9	3365	34,2
Je ne sais pas	20082	63,9	12983	60,5		28775	63,2	4290	58,3		12755	64,5	20310	61,4		27927	64,9	5138	52,2
Les infections en général					<0,0001					<0,0001					<0,0001				<0,0001
Oui	7680	24,5	5758	26,8		11028	24,2	2411	32,8		4152	21,0	9287	28,1		10588	24,6	2850	28,9
Non	5691	18,1	4212	19,6		8474	18,6	1429	19,4		3866	19,6	6037	18,2		7248	16,9	2656	27,0
Je ne sais pas	18034	57,4	11497	53,6		26014	57,2	3517	47,8		11757	59,5	17774	53,7		25185	58,5	4346	44,1
La grossesse					<0,0001					<0,0001					<0,0001				<0,0001
Oui	11672	37,2	9438	44,0		17301	38,0	3809	51,8		7890	39,9	13220	39,9		15521	36,1	5589	56,7
Non	3594	11,4	2734	12,7		5592	12,3	736	10,0		2191	11,1	4137	12,5		5189	12,1	1138	11,6
Je ne sais pas	16141	51,4	9296	43,3		22623	49,7	2813	38,2		9695	49,0	15741	47,6		22311	51,9	3125	31,7
Aucun effet sur la santé					<0,0001					<0,0001					<0,0001				<0,0001
Oui	1851	5,9	1463	6,8		2729	6,0	586	8,0		1196	6,1	2118	6,4		2992	7,0	323	3,3
Non	20539	65,4	14449	67,3		29596	65,0	5392	73,3		12834	64,9	22155	66,9		26770	62,2	8219	83,4
Je ne sais pas	9015	28,7	5555	25,9		13191	29,0	1379	18,7		5746	29,1	8824	26,7		13259	30,8	1311	13,3

¹ P pour la comparaison des réponses entre les participants ayant et n'ayant pas cité chaque source d'information en utilisant un test de χ^2 issu de modèles de régression logistique non conditionnelle ajustés sur l'âge (< 35 ans, 35-55 ans, ≥55 ans) et le sexe. Lorsque 3 réponses étaient possibles (ex. "D'accord / Pas d'accord / Je ne sais pas"), des modèles de régression logistique polytomique ajustés sur l'âge et le sexe ont été utilisés.

Les valeurs en gras sont celles pour lesquelles une différence ≥5% a été observée entre les catégories.

D) Discussion et mise en regard de la littérature

A notre connaissance, cette étude était la première en Europe à avoir estimé les connaissances liées à la vitamine D dans un large échantillon issu de la population générale. Alors que les sources de vitamine D et les effets santé établis pour la vitamine D n'étaient pas toujours cités par les participants, des proportions non négligeables de sujets ont également mentionné des sources incorrectes et des effets santé pour lesquels il n'existe pas de consensus. Les connaissances étaient fortement influencées par la source d'information concernant la vitamine D et par des facteurs sociodémographiques et économiques. Il est intéressant de noter qu'une forte incohérence a été observée entre ce que les individus pensaient de leur statut en vitamine D et leur statut mesuré.

Sources de vitamine D

Bien qu'environ 30% des participants ne l'aient pas citée, l'exposition solaire (source principale de vitamine D [25]) était néanmoins la source de vitamine D la plus citée, ce qui est cohérent avec des études précédentes dans lesquelles une grande part des individus ont associé le soleil à la vitamine D [47, 52, 56, 57, 60, 62, 63].

Les cabines et les bancs solaires artificiels ont été promus par l'industrie comme une source de vitamine D [216]. Six pour cent de notre population étaient d'accord avec cet argument et en particulier les jeunes. Les bancs solaires ont également été cités comme source de vitamine D par des athlètes néo-zélandais dans une précédente étude [62]. En France, les cabines et bancs solaires artificiels présents dans les salons de bronzage diffusent principalement des UVA [217]. Ainsi, ils ne permettent pas ou très peu la synthèse de vitamine D mais sont fortement associés au vieillissement cutané et au risque de cancer de la peau [216, 218]. Ces dispositifs ne devraient donc pas être recommandés comme un moyen d'obtenir de la vitamine D, avec une attention particulière pour les jeunes chez qui l'utilisation de ces dispositifs et/ou des coups de soleil augmentent significativement le risque de développer un cancer de la peau [219].

Les sources alimentaires de vitamine D sont principalement l'huile de foie de morue, les poissons gras, les œufs, les abats, les produits laitiers (en particulier lorsqu'ils sont enrichis) et certains champignons, même si la contribution de ces sources au statut en vitamine D est faible comparée à celle de l'exposition solaire [25, 146]. Dans notre population, comme dans de précédentes études [47, 49, 56, 57, 60-64], les connaissances des sources de vitamine D étaient insuffisantes et contrastées en fonction des sources considérées. Des sources comme les poissons gras, l'huile de foie de morue ou les produits laitiers enrichis étaient connus par 50-60% de nos participants. D'autres sources comme les produits laitiers non enrichis, les abats ou les œufs étaient connues par 20-30%. Une certaine confusion a également été observée puisque 18% des sujets ont cité l'huile d'olive et 5-10% ont cité le poisson maigre ou le poulet alors que ces aliments ne contiennent pas ou très peu de vitamine D. Des sources incorrectes de vitamine D comme les fruits, les légumes, le soja ou le riz ont également été citées dans les études précédentes [56, 60, 62, 64].

Effets santé de la vitamine D

Jusqu'à présent, même si les résultats provenant d'études d'observation sont plutôt prometteurs (même si contrastés) concernant des effets santé de la vitamine D non liés à des aspects musculo-squelettiques, les résultats des essais contrôlés randomisés n'ont pas permis de les confirmer [43]. Ainsi, les effets de la vitamine D pour la santé musculo-squelettique restent les seuls effets santé réellement établis à ce jour (IOM [22]). Ce point est toutefois débattu par l'Endocrine Society qui considère que le rôle de la vitamine D dans d'autres issues de santé devrait être pris en compte

pour la formulation des recommandations [66, 67]. Dans ce contexte de constante augmentation des connaissances, les médias ont fait circuler beaucoup d'information sur la vitamine D au cours de ces dernières années et n'ont souvent pas pondéré leur message en fonction du niveau de preuve associé à une issue de santé donnée [46]. Tout ceci a fini par résulter en une certaine confusion concernant les effets santé de la vitamine D à la fois au niveau du public mais aussi des professionnels de santé [48, 56], ce qui est observé dans notre étude.

Le rôle établi de la vitamine D dans la santé osseuse était connu par une majorité des participants mais était néanmoins méconnu pour 22-38% d'entre eux. Le rôle de la vitamine D dans la santé osseuse était également identifié comme effet santé majeur de la vitamine D dans de précédentes études [47, 52-54, 56, 57, 62, 64].

Bien qu'un rôle de la vitamine D dans la prévention de la pré-éclampsie ou du diabète gestationnel soit toujours en cours d'investigation, son rôle dans la prévention de l'hypocalcémie néonatale a quant à lui été établi, ce qui a conduit en France à la recommandation d'une complémentation des femmes enceintes [24, 220]. Toutefois, dans notre population, seuls 40% des participants ont associé la vitamine D à la grossesse.

Les participants ont également associé la vitamine D à d'autres issues de santé comme les cancers, les maladies cardiovasculaires ou les troubles cognitifs, comme observé précédemment [47, 54, 56, 62-64]. Bien qu'il soit possible que ces associations existent, le niveau de preuve actuel ne permet pas de formuler des réponses définitives. Les réponses devraient donc être plus mesurées pour refléter l'état du consensus scientifique. Le fait de croire que la vitamine D pourrait avoir toutes sortes d'effets santé pourrait conduire la population à rechercher une complémentation/supplémentation en vitamine D, alors que celle-ci ne devrait viser que les individus à risque d'insuffisance [73, 89].

Opinion à propos du statut en vitamine D

Environ un quart de notre population pensait que leur statut en vitamine D était trop bas. Les proportions correspondantes étaient de 9% et 6% dans de précédentes études conduites en Australie et Nouvelle-Zélande. De façon surprenante, les participants ayant une peau foncée étaient les moins concernés par leur statut en vitamine D malgré le fait qu'ils soient plus à risque de présenter une insuffisance [5, 15, 221]. Ces résultats sont cohérents avec une étude australienne menée sur des médecins généralistes [50] dans laquelle le fait d'avoir une peau foncée n'était pas considéré comme un facteur de risque majeur de l'insuffisance en vitamine D.

La prévalence de l'insuffisance en vitamine D (25(OH)D <20ng/ml) dans notre sous-échantillon était d'environ 40% (ce qui est cohérent avec la prévalence de 42,5% observée dans une étude française représentative au niveau national [68]). De façon intéressante, l'inquiétude par rapport au statut en vitamine D et le fait de présenter effectivement une insuffisance en vitamine D n'étaient pas en phase : seuls 16% des individus présentant un statut insuffisant en vitamine D pensaient que leur statut en vitamine D était trop bas, et 30% de ceux qui pensaient que leur statut en vitamine D était trop bas présentaient effectivement une insuffisance.

Sources d'information concernant la vitamine D

Les médecins étaient la principale source d'information concernant la vitamine D dans notre population, en particulier pour les femmes et les sujets plus âgés, i.e. deux groupes à risque d'insuffisance en vitamine D ou de problèmes osseux. Cette source d'information était associée à de meilleures connaissances. Des études précédentes ont également observé que les médecins étaient les principales sources d'information à propos de la vitamine D [47, 51, 56, 59, 63]. Ceci

souligne l'important rôle joué par les médecins (source fiable d'information) dans l'éducation de leurs patients sur des sujets de nutrition et de santé [48, 51, 53, 54].

Toutefois, les individus utilisent généralement différentes sources d'information [48]. Dans notre étude, lorsque tous les types de médias étaient regroupés, ils étaient cités par 63% des participants (en particulier les hommes), devenant ainsi la première source d'information sur la vitamine D, comme observés dans de précédentes études [51, 56, 63, 64]. Dans notre étude, les participants ayant entendu parler de la vitamine D dans les médias (tous types) étaient plus susceptibles d'associer la vitamine D à différents effets santé non établis, ce qui pourrait résulter du message confus véhiculé par certains médias [46, 51].

Connaissance de la vitamine D en fonction du sexe, de l'âge et de la position socio-économique

Dans cette étude, les femmes ont montré une connaissance plus précise de la vitamine D comparées aux hommes, notamment pour ce qui est des sources de vitamine D et du rôle de la vitamine D dans la santé osseuse et la grossesse. Elles étaient également plus inquiètes concernant leur statut en vitamine D. Cette différence hommes/femmes a déjà été observée [54, 61, 63, 64] et pourrait être liée au fait que les femmes montrent généralement plus d'intérêt pour les sujets liés à la nutrition et à la santé mais aussi au fait que, étant un groupe « à risque » pour l'insuffisance en vitamine D et les problèmes osseux, elles peuvent également avoir été plus sensibilisées à la vitamine D par leur médecin, comme observé dans cette étude.

Par ailleurs, un effet de l'âge et/ou de la génération a été observé dans notre étude, comme précédemment [54, 56, 63, 64]. Les participants plus âgés connaissaient mieux l'huile de foie de morue et le rachitisme, ce qui est cohérent avec une étude menée à Londres [56] et avec le fait que, lorsqu'ils étaient enfants, les aînés ont pour la plupart reçu de l'huile de foie de morue à l'école pour prévenir le rachitisme, alors que le terme « rachitisme » peut ne pas être connu des plus jeunes. Les individus plus âgés (groupe « à risque ») étaient plus susceptibles de citer les médecins comme source d'information, ce qui peut avoir conduit à une meilleure connaissance du rôle joué par la vitamine D dans la santé osseuse. À l'inverse, les plus jeunes (en particulier les femmes) ont montré une meilleure connaissance du rôle joué par la vitamine D au cours de la grossesse. Ils étaient également plus susceptibles de citer l'école/Université comme source d'information comme observé dans une étude menée en 2013 sur des étudiants [61]. Les plus âgés connaissaient mieux les sources alimentaires « classiques » de vitamine D alors que les plus jeunes citaient les compléments alimentaires et les produits laitiers enrichis.

Comme observé précédemment [54, 64], une meilleure position socioéconomique était associée à une meilleure connaissance globale de la vitamine D.

Dans le contexte actuel où la vitamine D suscite un intérêt marqué de la part du public et de la communauté scientifique et médicale, cette étude, la première en Europe dans un échantillon de cette taille, a permis d'obtenir des informations détaillées sur les connaissances et les croyances d'adultes issus de la population générale à propos de ce nutriment particulier.

Ces résultats ont mis en évidence que les médecins mais aussi les médias étaient des sources d'information clé et qu'il existait une certaine confusion sur les effets santé établis ou non de la vitamine D ainsi que sur ses sources.

Ces observations étaient clairement modifiées par un effet de l'âge/de la génération et de facteurs socioéconomiques (au global, meilleure connaissance chez les femmes, les individus ayant un niveau d'éducation plus élevé et un revenu plus élevé). De plus, une importante incohérence a été observée entre ce que les individus pensent de leur statut et leur statut mesuré.

Des éléments d'information sur la vitamine D devraient être mis à disposition du public mais aussi des professionnels de santé. Ces éléments devraient intégrer des informations de base sur la vitamine D (sources, rôle dans l'homéostasie calcique), l'état des connaissances actuelles concernant les effets santé de la vitamine D avec une pondération en fonction de l'état du consensus scientifique, la durée optimale d'exposition solaire nécessaire pour produire de la vitamine D (en fonction de la pigmentation de la peau et de la latitude du lieu d'habitation) et compatible avec la prévention des cancers de la peau (en particulier éviter l'usage de cabines/bancs artificiels de bronzage), les facteurs de risque d'insuffisance en vitamine D (qui peuvent être résumés avec le score VDIP, voir Partie 1. III.) et des recommandations de complémentation en vitamine D (groupes, doses). Ceci pourrait ainsi contribuer à terme à l'amélioration du statut en vitamine D de la population.

II. Déterminants du statut en vitamine D

Touvier M, Deschasaux M, Montourcy M, Sutton A, Charnaux N, Kesse-Guyot E, Assmann KE, Fezeu L, Latino-Martel P, Druetne-Pecollo N, Guinot C, Latreille J, Malvy D, Galan P, Hercberg S, Le Clerc S, Souberbielle JC, Ezzedine K. Determinants of vitamin D status in Caucasian adults: influence of sun exposure, dietary intake, sociodemographic, lifestyle, anthropometric, and genetic factors. *J Invest Dermatol.* 2015 Feb;135(2):378-88.

L'article issu de ces résultats est présenté en **Annexe 2**.

A) Population d'étude

Cette étude portait sur l'échantillon de témoins de l'étude cas-témoin nichée dans la cohorte SU.VI.MAX. Parmi les 1850 participants éligibles, nous avons exclu les participants ayant déclaré : une prise de médicaments contenant de la vitamine D au moment de l'inclusion (N=12), des antécédents d'épilepsie (N=3), des antécédents d'insuffisance rénale (N=3) ou ayant fourni moins de 2 enregistrements alimentaires de 24h au cours des deux premières années de suivi (N=4). 1828 participants ont donc finalement été inclus dans les analyses.

B) Analyses statistiques

Dans cette étude, nous avons cherché à identifier les facteurs influençant le statut en vitamine D (concentration plasmatique en 25(OH)D) parmi différents déterminants potentiels : sexe, âge, IMC, activité physique, statut tabagique, niveau d'éducation, apports alimentaires en vitamine D, consommation d'alcool, latitude du lieu d'habitation, exposition solaire (via un score reflétant l'intensité de l'exposition solaire), phototype (classification de Fitzpatrick) et période de prélèvement sanguin.

L'étude des associations entre le statut en vitamine D et ses déterminants potentiels a été réalisée à l'aide de modèles multivariés incluant l'ensemble de ces paramètres et ajustés sur le nombre d'enregistrements de 24h fournis par chaque participant au cours des deux premières années du suivi. Les associations entre le statut en vitamine D et des scores reflétant la pratique de sports de montagne, de sports nautiques ou d'activités en extérieur ont été étudiées dans des modèles intégrant l'ensemble des variables précitées. Les associations entre chaque SNP (3 géotypes : WT, HT, MT) et le statut en vitamine D ont été étudiées dans des modèles incluant l'ensemble des facteurs non-génétiques.

La concentration en 25(OH)D a tout d'abord été considérée comme une variable continue dans des modèles de régression linéaire. Une transformation de type Box-Cox a été appliquée à la concentration en 25(OH)D afin d'améliorer sa normalité. Dans un second temps, les probabilités pour un individu de présenter une carence (≤ 10 ng/ml) ou une insuffisance ($> 10 - \leq 20$ ng/ml) en vitamine D ont été évaluées à l'aide de modèles de régression logistique polytomique non conditionnelle (catégorie de référence : statut « normal » i.e. > 20 ng/ml, variable de statut traitée comme une variable ordinale). Les odds ratios (ORs) et leur intervalle de confiance à 95% (IC95%) ont été calculés.

Les concentrations en 25(OH)D et PTH sont inversement corrélées et pourraient être toutes deux associées aux facteurs testés [222, 223]. Nous avons donc reproduit l'ensemble des analyses précédentes en remplaçant la concentration en 25(OH)D par la concentration en PTH.

C) Résultats

Les caractéristiques de la population d'étude sont présentées en **Tableau 13**. Les participants étaient des hommes et femmes d'âge moyen de type Caucasien. La concentration plasmatique moyenne en 25(OH)D était de 20,0ng/ml (SD=10,3) ; 14,8% des individus présentaient un statut en vitamine D \leq 10ng/ml et 57,8% un statut \leq 20ng/ml. La concentration moyenne en PTH était de 26,3ng/l (SD=9,4).

Tableau 13 Caractéristiques de la population d'étude « Déterminants du statut en vitamine D », cohorte SU.VI.MAX, France (N=1828)

	25(OH)D <10ng/ml N=271		10 ≤ 25(OH)D <20ng/ml N=785		25(OH)D ≥20ng/ml N=772	
	N (%)	Moy±SD	N (%)	Moy±SD	N (%)	Moy±SD
Sexe						
Homme	94 (34,7)		327 (41,7)		412 (53,4)	
Femme	177 (65,3)		458 (58,3)		360 (46,6)	
Age (ans)						
<40	12 (4,4)		42 (5,4)		48 (6,2)	
40-44	34 (12,5)		88 (11,2)		65 (8,4)	
45-49	72 (26,6)		219 (27,9)		190 (24,6)	
50-54	68 (25,1)		205 (26,1)		192 (24,9)	
55-65	85 (31,4)		231 (29,4)		277 (35,9)	
Consommation d'alcool (g/jour)		14,1±17,5		18,3±20,4		21,7±21,9
Quartile 1		1,7±2,9		1,9±3,0		2,7±3,6
Quartile 2		7,8±7,2		9,1±7,4		11,3±7,6
Quartile 3		16,9±11,8		20,4±12,0		21,4±12,3
Quartile 4		38,9±19,7		42,0±23,2		47,3±23,0
Indice de Masse Corporelle (kg/m ²)						
<18,5 (sous-poids)	8 (2,9)		21 (2,7)		8 (1,0)	
≥18,5-<25 (poids normal)	150 (55,4)		449 (57,2)		504 (65,3)	
≥25-<30 (surpoids)	76 (28,0)		263 (33,5)		231 (29,9)	
≥30 (obésité)	37 (13,7)		52 (6,6)		29 (3,8)	
Activité physique						
Irrégulière	83 (30,6)		212 (27,0)		139 (18,0)	
<1h/jour d'équivalent marche	97 (35,8)		247 (31,5)		210 (27,2)	
≥1h/jour d'équivalent marche	91 (33,6)		326 (41,5)		423 (54,8)	
Statut tabagique						
Non-fumeurs	145 (53,5)		416 (53,0)		351 (45,5)	
Ex-fumeurs	96 (35,4)		269 (34,3)		330 (42,7)	
Fumeurs	30 (11,1)		100 (12,7)		91 (11,8)	
Niveau d'étude						
Primaire	68 (25,1)		181 (23,1)		162 (21,0)	
Secondaire	109 (40,2)		270 (34,4)		311 (40,3)	
Supérieur	94 (34,7)		334 (42,5)		299 (38,7)	
Statut ménopausique						
Non-ménopausées	108 (61,0)		280 (61,1)		213 (59,2)	
Ménopausées	69 (39,0)		178 (38,9)		147 (40,8)	
Prise d'un THM						
Oui	61 (34,5)		156 (34,1)		144 (40,0)	
Apports alimentaires en vitamine D (µg/jour)		2,7±1,8		2,8±1,9		2,9±2,0
Latitude		47,5±1,8		47,2±3,1		46,5±2,1
Période de prélèvement						
Octobre-Novembre	21 (7,8)		108 (13,8)		176 (22,8)	
Décembre-Janvier	72 (26,6)		225 (28,7)		290 (37,5)	
Février-Mars	134 (49,4)		359 (45,7)		239 (31,0)	
Avril-Mai	44 (16,2)		93 (11,8)		67 (8,7)	

Score d'intensité d'exposition solaire au cours de la vie ¹		3,2±3,4	4,3±3,4	5,2±3,4
Phototype de Fitzpatrick ²				
I	20 (7,4)	34 (4,3)	19 (2,5)	
II	76 (28,0)	206 (26,3)	146 (18,9)	
III	141 (52,0)	425 (54,1)	454 (58,8)	
IV	34 (12,6)	120 (15,3)	153 (19,8)	
Concentration plasmatique en 25(OH)D (ng/ml)		7,6±1,6	15,0±2,8	29,6±8,4
Concentration plasmatique en PTH (ng/l)		30,4±11,7	26,4±9,3	24,7±7,9
VDR Bsm1 rs1544410 ³				
CC (WT)	86 (35,0)	271 (36,7)	259 (36,6)	
CT (HT)	111 (45,1)	332 (45,0)	321 (45,3)	
TT (MT)	49 (19,9)	135 (18,3)	128 (18,1)	
VDR FokI rs2228570/10735810 ³				
GG (WT)	106 (39,6)	315 (40,8)	319 (42,1)	
AG (HT)	123 (45,9)	335 (43,3)	329 (43,5)	
AA (MT)	39 (14,5)	123 (15,9)	109 (14,4)	
VDR Cdx2 rs11568820 ³				
CC (WT)	147 (56,1)	434 (57,9)	430 (58,2)	
CT (HT)	98 (37,4)	269 (35,9)	269 (36,4)	
TT (MT)	17 (6,5)	47 (6,2)	40 (5,4)	
CYP24A1 rs48099583 ³				
TT (WT)	179 (67,8)	544 (72,2)	497 (68,0)	
GT (HT)	77 (29,2)	194 (25,8)	220 (30,1)	
GG (MT)	8 (3,0)	15 (2,0)	14 (1,9)	
GC rs4588 ³				
GG (WT)	99 (37,6)	356 (47,0)	418 (55,5)	
GT (HT)	116 (44,1)	331 (43,7)	284 (37,7)	
TT (MT)	48 (18,3)	71 (9,4)	51 (6,8)	
GC rs7041 ³				
AA (WT)	73 (27,5)	167 (21,8)	130 (17,3)	
AC (HT)	132 (49,6)	372 (48,6)	339 (45,1)	
CC (MT)	61 (22,9)	227 (29,6)	283 (37,6)	
RXR rs 7861779 ³				
CC (WT)	183 (73,8)	562 (76,1)	556 (77,7)	
CT (HT)	60 (24,2)	167 (22,6)	149 (20,7)	
TT (MT)	5 (2,0)	10 (1,3)	11 (0,6)	
RXR rs12004589 ³				
GG (WT)	200 (76,9)	582 (77,0)	593 (79,9)	
GT (HT)	55 (21,2)	169 (22,3)	139 (18,7)	
TT (MT)	5 (1,9)	5 (0,7)	10 (1,4)	
CASR rs1801725 ³				
GG (WT)	174 (66,4)	543 (70,9)	538 (71,9)	
GT (HT)	83 (31,7)	201 (26,2)	195 (26,1)	
TT (MT)	5 (1,9)	22 (2,9)	15 (2,0)	
CASR rs4678174 ³				
TT (WT)	126 (49,2)	356 (48,3)	368 (50,9)	
CT (HT)	107 (41,8)	313 (42,5)	283 (39,1)	
CC (MT)	23 (9,0)	68 (9,2)	72 (10,0)	

¹ Score reflétant l'intensité de l'exposition solaire au cours de la vie développé et validé à partir du questionnaire « exposition solaire » posé dans la cohorte SU.VI.MAX. Le score a été obtenu au moyen d'une analyse en composantes principales incluant les différents aspects des comportements vis-à-vis de l'exposition et de la protection solaires évalués dans le questionnaire (bronzage, protection solaire, coups de soleil, exposition aux heures méridiennes, exposition solaire dans le cadre du travail, des loisirs, de la pratique d'activité physique...) [197-200].

² I: Brûle toujours, ne bronze jamais; II: Brûle facilement, bronze difficilement; III: Brûle parfois, bronze assez facilement; IV: Brûle rarement, bronze facilement. Seuls ces 4 phototypes étaient représentés dans cette population de type Caucasic.

³ Données manquantes pour les données génétiques: 136 (rs1544410), 30 (rs2228570/10735810), 77 (rs11568820), 80 (rs4809958), 54 (rs4588), 44 (rs7041), 125 (rs78617793), 70 (rs120045893), 52 (rs18017253), 112 (rs46781743). Pour les covariables non-génétiques, moins de 5% des valeurs étaient manquantes et ont été remplacées par la valeur modale.

WT, homozygote sauvage ; HT, hétérozygote ; MT, homozygote muté.

Le statut en vitamine D (**Tableau 14**) était plus bas chez les femmes ($P < 0,0001$), les individus plus âgés ($P = 0,04$), les individus obèses ou en sous-poids ($P < 0,0001$), ceux vivant à des latitudes plus élevées (i.e. plus au nord) ($P < 0,0001$), et ceux dont la prise de sang a été réalisée à la sortie de l'hiver ($P < 0,0001$). Inversement, le statut en vitamine D était plus élevé chez les individus pratiquant une activité physique plus importante ($P < 0,0001$), chez ceux ayant des scores reflétant une exposition solaire habituelle plus élevée ($P < 0,0001$), chez ceux avec une peau plus foncée (parmi les Caucasiens, phototype de Fitzpatrick de type III/IV) ($P = 0,03$) et chez ceux buvant plus d'alcool ($P < 0,0001$). Parmi les 10 SNPs étudiés (**Tableau 15**), le génotype GC rs4588 TT était associé à un statut en vitamine D plus faible alors que le génotype GC rs7041 CC était associé à un statut plus élevé ($P < 0,0001$ pour les deux).

Tableau 14 Concentration plasmatique en 25-hydroxyvitamine D (ng/ml) en fonction de facteurs non génétiques, cohorte SU.VI.MAX, France (N=1828)

	n	Moy± SE ¹	P ²
Sexe			<,0001 [§]
Homme	833	18,1±1,1	
Femme	995	16,2±1,1	
Age (ans)			0,04 [§]
<40	102	19,5±1,1	
40-44	187	17,6±1,1	
45-49	481	17,1±1,1	
50-54	465	16,6±1,1	
55-65	593	17,8±1,1	
Consommation d'alcool (g/jour) ³			0,0001
Quartile 1	456	16,7±1,1	
Quartile 2	457	17,1±1,1	
Quartile 3	458	18,3±1,1	
Quartile 4	457	18,7±1,1	
Indice de Masse Corporelle (kg/m ²)			<,0001 [§]
<18,5 (sous-poids)	37	17,5±1,2	
≥18,5-<25 (poids normal)	1103	19,9±1,0	
≥25-<30 (surpoids)	570	18,6±1,1	
≥30 (obésité)	118	15,0±1,1	
Activité physique			<,0001
Irrégulière	434	16,7±1,1	
<1h/jour d'équivalent marche	554	17,2±1,1	
≥1h/jour d'équivalent marche	840	19,2±1,1	
Statut tabagique			0,3 [§]
Non-fumeurs	912	17,7±1,1	
Ex-fumeurs	695	18,2±1,1	
Fumeurs	221	17,2±1,1	
Niveau d'étude			0,8
Primaire	411	17,2±1,1	
Secondaire	690	18,3±1,1	
Supérieur	727	17,6±1,1	
Apports alimentaires en vitamine D (µg/jour) ³			0,7
Quartile 1	456	17,7±1,1	
Quartile 2	457	17,8±1,1	
Quartile 3	458	17,2±1,1	

Quartile 4	457	18,2±1,1	
Latitude ³			<,0001
Quartile 1	459	19,6±1,1	
Quartile 2	478	18,8±1,1	
Quartile 3	424	16,7±1,1	
Quartile 4	467	15,8±1,1	
Période de prélèvement			<,0001
Octobre-Novembre	305	20,6±1,1	
Décembre-Janvier	587	18,3±1,1	
Février-Mars	732	15,9±1,1	
Avril-Mai	204	16,4±1,1	
Score d'intensité d'exposition solaire au cours de la vie ³			<,0001
Quartile 1	364	14,7±1,1	
Quartile 2	559	17,1±1,1	
Quartile 3	412	19,2±1,1	
Quartile 4	493	20,1±1,1	
Phototype de Fitzpatrick ⁴			0,03
I	73	16,2±1,1	
II	428	17,9±1,1	
III	1020	17,9±1,1	
IV	307	18,8±1,1	

¹ Moyennes ajustées et erreur standard pour la concentration plasmatique en 25(OH)D, obtenues à partir d'un modèle de régression linéaire multivarié incluant tous les facteurs non génétiques étudiés et ajusté sur le nombre d'enregistrements alimentaires de 24h. Les moyennes ajustées peuvent donc différer légèrement des moyennes brutes (Table 12).

² P global (§) ou P de tendance linéaire

³ Seuils pour les quartiles de variables continues: consommation d'alcool (g/jour), 11,3/24,0/42,8 chez les hommes et 1,4/5,8/15,4 chez les femmes; apports alimentaires en vitamine D (µg/jour), 1,7/2,7/4,1 chez les hommes et 1,4/2,1/3,3 chez les femmes; latitude (°), 45,4/48,0/48,5; intensité d'exposition solaire au cours de la vie (score de 0 à 10), 1,7/4,4/8,2.

⁴ I: Brûle toujours, ne bronze jamais; II: Brûle facilement, bronze difficilement; III: Brûle parfois, bronze assez facilement; IV: Brûle rarement, bronze facilement. Seuls ces 4 phototypes étaient représentés dans cette population de type Caucasiens.

Tableau 15 Concentration plasmatique en 25-hydroxyvitamine D (ng/ml) en fonction de 10 polymorphismes (SNPs) sélectionnés de gènes impliqués dans le métabolisme de la vitamine D et/ou du calcium, cohorte SU.VI.MAX, France (N=1828)

	n	Moy±SE ¹	P-trend
VDR BsmI rs1544410 ²			0,2
WT	616	16,9±1,1	
HT	764	16,7±1,1	
MT	312	16,3±1,1	
VDR FokI rs2228570/10735810 ²			0,3
WT	740	16,8±1,1	
HT	787	16,5±1,1	
MT	271	16,3±1,1	
VDR Cdx2 rs11568820 ²			0,6
WT	1011	16,6±1,1	
HT	636	16,8±1,1	
MT	104	16,9±1,1	
CYP24A1 rs4809958 ²			0,3
WT	1220	16,5±1,1	
HT	491	17,0±1,1	
MT	37	16,8±1,2	
GC rs4588 ²			<0,0001
WT	873	17,8±1,1	
HT	731	15,9±1,1	

MT	170	13,8±1,1	
GC rs7041 ²			<0,0001
WT	370	15,1±1,1	
HT	843	16,3±1,1	
MT	571	18,1±1,1	
RXR rs7861779 ²			0,4
WT	1301	16,9±1,1	
HT	376	16,3±1,1	
MT	26	16,5±1,2	
RXR rs12004589 ²			0,5
WT	1375	16,8±1,1	
HT	363	16,4±1,1	
MT	20	17,2±1,1	
CASR rs1801725 ²			0,2
WT	1255	16,9±1,1	
HT	479	16,1±1,1	
MT	42	17,2±1,2	
CASR rs4678174 ²			0,9
WT	850	16,7±1,1	
HT	703	16,1±1,1	
MT	163	17,4±1,1	

¹ Moyennes ajustées et erreur standard pour la concentration plasmatique en 25(OH)D, obtenues à partir d'un modèle de régression linéaire multivariés ajustés sur le sexe, l'âge, la consommation d'alcool, l'IMC, l'activité physique, le statut tabagique, le niveau d'éducation, le nombre d'enregistrements alimentaires de 24h, les apports alimentaires en vitamine D, la latitude de lieu d'habitation, la période de prélèvement, l'intensité d'exposition solaire au cours de la vie et le phototype de Fitzpatrick. Un modèle a été utilisé pour chaque SNP. Les moyennes ajustées peuvent donc différer légèrement des moyennes brutes (Table 12).

² Données manquantes: 136 (rs1544410), 30 (rs2228570/10735810), 77 (rs11568820), 80 (rs4809958), 54 (rs4588), 44 (rs7041), 125 (rs78617793), 70 (rs120045893), 52 (rs18017253), 112 (rs46781743).

WT, homozygote sauvage ; HT, hétérozygote ; MT, homozygote muté.

De manière cohérente (**Tableau 16**), le risque de présenter une carence en vitamine D était plus important chez les femmes (OR Femmes vs. Hommes=2,6 (IC95% 1,6–4,3), P<0,0001), chez les individus obèses ou en sous-poids (OR obésité vs. poids normal=3,9 (2,2–7,0), OR sous-poids vs. poids normal=3,1 (1,1–9,2), P<0,0001), chez ceux vivant à des latitudes plus élevées (OR Q4 vs. Q1=3,2 (2,0–5,0), P<0,0001), et chez ceux dont la prise de sang a été réalisée à la sortie de l'hiver (OR Avril–Mai vs. Octobre–Novembre=3,7 (1,9–7,0), P<0,0001). Le risque d'être en carence de vitamine D était plus faible chez les individus pratiquant une activité physique plus importante (OR ≥1h/jour vs. irrégulière=0,4 (0,3–0,7), P<0,0001), chez ceux ayant obtenu un score d'exposition solaire plus élevé (OR Q4 vs. Q1=0,2 (0,1–0,3), P<0,0001), chez ceux avec une peau plus foncée (phototype de Fitzpatrick, OR IV vs. I=0,4 (0,2–0,99), P=0,04), et chez ceux buvant plus d'alcool (OR Q4 vs. Q1=0,5 (0,3–0,8), P=0,006).

Tableau 16 Associations entre la concentration plasmatique en 25-hydroxyvitamine D (3 classes : carence, ≤10ng/ml / insuffisance, 10< 25(OH)D ≤20ng/ml / Référence=statut normal, 25(OH)D>20ng/ml) et les facteurs non génétiques étudiés, cohorte SU.VI.MAX, France (N=1828)

	n	>10 - ≤20 vs >20ng/ml		≤10 vs >20ng/ml		p ¹
		OR	IC 95%	OR	IC 95%	
Sexe						<,0001 ^s
Homme	833	1		1		
Femme	995	1,8	1,3-2,5	2,6	1,6-4,3	
Age (ans)						0,2 ^s
<40	102	1		1		
40-44	187	1,6	0,9-2,8	2,3	1,0-5,3	

45-49	481	1,7	1,1-2,9	2,3	1,1-4,9	
50-54	465	1,9	1,1-3,1	2,8	1,3-6,1	
55-65	593	1,5	0,9-2,5	2,5	1,1-5,4	
Consommation d'alcool (g/jour) ²						0,006
Quartile 1	456	1		1		
Quartile 2	457	0,9	0,6-1,2	0,9	0,6-1,4	
Quartile 3	458	0,8	0,6-1,1	0,6	0,4-0,9	
Quartile 4	457	0,8	0,6-1,1	0,5	0,3-0,8	
Indice de Masse Corporelle (kg/m ²)						<,0001 [§]
<18,5 (sous-poids)	37	2,6	1,1-6,2	3,1	1,1-9,2	
≥18,5-<25 (poids normal)	1103	1		1		
≥25-<30 (surpoids)	570	1,4	1,1-1,9	1,3	0,9-1,8	
≥30 (obésité)	118	2,0	1,2-3,3	3,9	2,2-7,0	
Activité physique						<,0001
Irrégulière	434	1		1		
<1h/jour d'équivalent marche	554	0,8	0,6-1,1	0,9	0,6-1,3	
≥1h/jour d'équivalent marche	840	0,6	0,4-0,7	0,4	0,3-0,7	
Statut tabagique						0,3 [§]
Non-fumeurs	912	1		1		
Ex-fumeurs	695	0,8	0,6-1,0	1,0	0,7-1,5	
Fumeurs	221	1,0	0,7-1,5	1,1	0,7-1,9	
Niveau d'étude						0,3
Primaire	411	1		1		
Secondaire	690	0,7	0,5-1,0	0,7	0,5-1,1	
Supérieur	727	0,98	0,7-1,3	0,7	0,5-1,1	
Apports alimentaires en vitamine D (µg/jour) ²						0,7
Quartile 1	456	1		1		
Quartile 2	457	1,2	0,9-1,7	0,9	0,6-1,4	
Quartile 3	458	1,1	0,8-1,5	1,0	0,6-1,5	
Quartile 4	457	1,0	0,7-1,3	0,8	0,5-1,2	
Latitude ²						<,0001
Quartile 1	459	1		1		
Quartile 2	478	1,1	0,8-1,4	1,0	0,6-1,7	
Quartile 3	424	1,7	1,3-2,4	2,3	1,5-3,8	
Quartile 4	467	2,1	1,5-2,9	3,2	2,0-5,0	
Période de prélèvement						<,0001
Octobre-Novembre	305	1		1		
Décembre-Janvier	587	1,3	0,9-1,8	2,3	1,3-4,0	
Février-Mars	732	2,4	1,8-3,3	4,8	2,8-8,2	
Avril-Mai	204	1,7	1,1-2,7	3,7	1,9-7,0	
Score d'intensité d'exposition solaire au cours de la vie ²						<,0001
Quartile 1	364	1		1		
Quartile 2	589	0,7	0,5-1,0	0,4	0,3-0,6	
Quartile 3	391	0,5	0,4-0,7	0,2	0,1-0,4	
Quartile 4	484	0,5	0,3-0,6	0,2	0,1-0,3	
Phototype de Fitzpatrick ³						0,04
I	73	1		1		
II	428	0,9	0,5-1,8	0,7	0,3-1,5	
III	1020	0,8	0,4-1,5	0,7	0,3-1,5	
IV	307	0,7	0,3-1,3	0,4	0,2-1,0	

¹ P global (§) ou P de tendance linéaire obtenus à partir d'un modèle de régression logistique polytomique non conditionnelle multivarié incluant tous les facteurs non-génétiques étudiés et ajusté sur le nombre d'enregistrements alimentaires de 24h. La régression logistique polytomique permet d'estimer différents odds simultanément dans un même modèle. Les trois catégories définies en fonction de la concentration en 25(OH)D ont été modélisées comme une variable nominale dépendante.

² Seuils pour les quartiles de variables continues: consommation d'alcool (g/jour), 11,3/24,0/42,8 chez les hommes et 1,4/5,8/15,4 chez les femmes; apports alimentaires en vitamine D (µg/jour), 1,7/2,7/4,1 chez les hommes et 1,4/2,1/3,3 chez les femmes; latitude (°), 45,4/48,0/48,5; intensité d'exposition solaire au cours de la vie (score de 0 à 10), 1,7/4,4/8,2.

³ I: Brûle toujours, ne bronze jamais; II: Brûle facilement, bronze difficilement; III: Brûle parfois, bronze assez facilement; IV: Brûle rarement, bronze facilement. Seuls ces 4 phototypes étaient représentés dans cette population de type Caucasien.

Le génotype GC rs4588 TT était associé à une augmentation de risque de carence en vitamine D (OR MT vs. WT=4.9 (3.0–8.1), P<0,0001) alors que le génotype GC rs7041 CC était associé à une diminution de risque (OR MT vs. WT=0.3 (0.2–0.5), P<0,0001) (**Tableau 17**).

Ces associations (facteurs non-génétiques et génétiques) étaient similaires avec le risque d'insuffisance en vitamine D (**Tableau 16 et Tableau 17**).

Tableau 17 Associations entre la concentration plasmatique en 25-hydroxyvitamine D (3 classes : carence, ≤10ng/ml / insuffisance, 10< 25(OH)D ≤20ng/ml / Référence=statut normal, 25(OH)D>20ng/ml) et 10 SNPs sélectionnés de gènes impliqués dans le métabolisme de la vitamine D et/ou du calcium, cohorte SU.VI.MAX, France (N=1828)

	n	>10 - ≤20 vs >20ng/ml		≤10 vs >20ng/ml		P-trend ¹
		OR	IC95%	OR	IC95%	
<i>VDR BsmI</i> rs1544410 ²						0.6
WT	616	1		1		
HT	764	1,0	0,8-1,3	1,1	0.7-1.5	
MT	312	1,0	0,7-1,4	1,2	0.8-1.9	
<i>VDR FokI</i> rs2228570/10735810 ²						0.6
WT	740	1		1		
HT	787	1,0	0,8-1,3	1,1	0.8-1.6	
MT	271	1,1	0,8-1,6	1,1	0.7-1.8	
<i>VDR Cdx2</i> rs11568820 ²						0.9
WT	1011	1		1		
HT	636	1,0	0,8-1,2	1,1	0.8-1.5	
MT	104	1,2	0,7-1,9	1,2	0.6-2.3	
<i>CYP24A1</i> rs4809958 ²						0.2
WT	1220	1		1		
HT	491	0,8	0,6-1,0	1,0	0.7-1.4	
MT	37	1,0	0,4-2,1	1,4	0.5-3.9	
<i>GC</i> rs4588 ²						<0.0001
WT	873	1		1		
HT	731	1,5	1,2-1,9	2,0	1.5-2.9	
MT	170	1,8	1,2-2,8	4,9	3.0-8.1	
<i>GC</i> rs7041 ²						<0.0001
WT	370	1		1		
HT	843	0,8	0,6-1,0	0,6	0.4-1.0	
MT	571	0,6	0,4-0,7	0,3	0.2-0.5	
<i>RXR</i> rs7861779 ²						0.8
WT	1301	1		1		
HT	376	1,1	0,8-1,4	1,2	0.8-1.8	
MT	26	1,0	0,4-2,4	1,2	0.4-4.3	
<i>RXR</i> rs12004589 ²						0.8
WT	1375	1		1		
HT	363	1,1	0,9-1,5	1,1	0.8-1.6	
MT	20	0,5	0,2-1,7	1,3	0.4-4.8	
<i>CASR</i> rs1801725 ²						0.3
WT	1255	1		1		
HT	479	1,1	0,9-1,4	1,5	1.0-2.1	
MT	42	1,3	0,7-2,7	0,8	0.3-2.5	
<i>CASR</i> rs4678174 ²						0.7
WT	850	1		1		

HT	703	1,3	1,0-1,6	1,3	0.9-1.8
MT	163	0,9	0,6-1,4	0,8	0.4-1.4

¹ P global (§) ou P de tendance linéaire obtenus à partir d'un modèle de régression logistique polytomique non conditionnelle multivarié ajustés sur le sexe, l'âge, la consommation d'alcool, l'IMC, l'activité physique, le statut tabagique, le niveau d'éducation, le nombre d'enregistrements alimentaires de 24h, les apports alimentaires en vitamine D, la latitude de lieu d'habitation, la période de prélèvement, l'intensité d'exposition solaire au cours de la vie et le phototype de Fitzpatrick. Un modèle a été utilisé pour chaque SNP. La régression logistique polytomique permet d'estimer différents odds simultanément dans un même modèle. Les trois catégories définies en fonction de la concentration en 25(OH)D ont été modélisées comme une variable nominale dépendante.

² Données manquantes: 136 (rs1544410), 30 (rs2228570/10735810), 77 (rs11568820), 80 (rs4809958), 54 (rs4588), 44 (rs7041), 125 (rs78617793), 70 (rs120045893), 52 (rs18017253), 112 (rs46781743).

WT, homozygote sauvage ; HT, hétérozygote ; MT, homozygote muté.

Les apports alimentaires en vitamine D, le statut tabagique, le niveau d'éducation (**Tableau 14 et Tableau 16**), le statut ménopausique et la prise de THM (données non montrées) n'étaient pas associés au statut en vitamine D, quel que soit le modèle considéré.

Dans des modèles multivariés, la pratique de sport en montagne (OR Q4 vs. Q1=0,4 (0,2–0,8), P=0,003) et d'activités en extérieur (OR Q4 vs. Q1=0,6 (0,4–0,9), P=0,01) était indépendamment associée avec un risque plus faible de carence en vitamine D. Aucune association n'a été observée pour la pratique de sports nautiques (P=0,9). L'ajout de ces variables dans le modèle global n'a pas modifié les résultats précédents (y compris l'association entre le statut en vitamine D et l'activité physique).

Toutes les associations entre statut en vitamine D, risque de carence ou d'insuffisance et paramètres non-génétiques étaient maintenues après ajout des facteurs génétiques dans le modèle. Un ajustement supplémentaire sur les apports énergétiques n'a pas modifié les résultats. En utilisant une procédure de sélection des variables de type Stepwise, toutes les associations principales ont été conservées dans tous les modèles (sexe, apport en alcool, IMC, activité physique, période de prélèvement, latitude, intensité de l'exposition solaire, génotypes pour GC rs4588 et rs7041) mais des associations plus faibles n'ont pas été conservées (âge et phototype).

Une concentration plus élevée en PTH (**Tableau 18**) était associée à un âge plus élevé (P=0,008), un IMC plus élevé (P=0,007), des apports alimentaires en vitamine D moins élevés (P=0,0003), une latitude du lieu d'habitation plus élevée (P<0,0001) et un prélèvement sanguin réalisé à la sortie de l'hiver (P<0,0001). Aucun des SNPs testé n'était associé avec la concentration en PTH.

Tableau 18 Concentration plasmatique en PTH (pg/ml) en fonction de facteurs non génétiques, cohorte SU.VI.MAX, France (N=1828)

	n	Moy± SE	P ²
Sexe			0,3 [§]
Homme	833	25,7±1,0	
Femme	995	25,2±1,0	
Age (ans)			0,008 [§]
<40	102	23,3±1,0	
40-44	187	25,6±1,0	
45-49	481	25,5±1,0	
50-54	465	26,1±1,0	
55-65	593	26,8±1,0	
Consommation d'alcool (g/jour) ³			0,4
Quartile 1	456	25,9±1,0	

Quartile 2	457	24,4±1,0	
Quartile 3	458	25,4±1,0	
Quartile 4	457	26,0±1,0	
Indice de Masse Corporelle (kg/m ²)			0,007 ^s
<18,5 (sous-poids)	37	24,4±1,1	
≥18,5-<25 (poids normal)	1103	24,9±1,0	
≥25-<30 (surpoids)	570	25,3±1,0	
≥30 (obésité)	118	27,2±1,0	
Activité physique			0,4
Irrégulière	434	25,8±1,0	
<1h/jour d'équivalent marche	554	25,3±1,0	
≥1h/jour d'équivalent marche	840	25,2±1,0	
Statut tabagique			0,6 ^s
Non-fumeurs	912	25,6±1,0	
Ex-fumeurs	695	25,6±1,0	
Fumeurs	221	25,1±1,0	
Niveau d'étude			0,2
Primaire	411	25,4±1,0	
Secondaire	690	25,0±1,0	
Supérieur	727	25,9±1,0	
Apports alimentaires en vitamine D (µg/jour) ³			0,0003
Quartile 1	456	26,1±1,0	
Quartile 2	457	25,6±1,0	
Quartile 3	458	25,6±1,0	
Quartile 4	457	24,4±1,0	
Latitude ³			<0,0001
Quartile 1	459	24,5±1,0	
Quartile 2	478	25,2±1,0	
Quartile 3	424	25,8±1,0	
Quartile 4	467	26,3±1,0	
Période de prélèvement			<0,0001
Octobre-Novembre	305	22,9±1,0	
Décembre-Janvier	587	23,6±1,0	
Février-Mars	732	24,4±1,0	
Avril-Mai	204	31,7±1,0	
Score d'intensité d'exposition solaire au cours de la vie ³			0,6
Quartile 1	364	25,9±1,0	
Quartile 2	559	25,4±1,0	
Quartile 3	412	24,6±1,0	
Quartile 4	493	25,8±1,0	
Phototype de Fitzpatrick ⁴			0,8
I	73	25,5±1,0	
II	428	25,6±1,0	
III	1020	25,4±1,0	
IV	307	25,2±1,0	

¹ Moyennes ajustées et erreur standard pour la concentration plasmatique en PTH, obtenues à partir d'un modèle de régression linéaire multivarié incluant tous les déterminants non-génétiques et ajusté sur le nombre d'enregistrements alimentaires de 24h. Les moyennes ajustées peuvent donc différer légèrement des moyennes brutes (Table 12).

² P global (§) ou P de tendance linéaire

³ Seuils pour les quartiles de variables continues: consommation d'alcool (g/jour), 11,3/24,0/42,8 chez les hommes et 1,4/5,8/15,4 chez les femmes; apports alimentaires en vitamine D (µg/jour), 1,7/2,7/4,1 chez les hommes et

1,4/2,1/3,3 chez les femmes; latitude (°), 45,4/48,0/48,5; intensité d'exposition solaire au cours de la vie (score de 0 à 10), 1,7/4,4/8,2.

⁴ I: Brûle toujours, ne bronze jamais; II: Brûle facilement, bronze difficilement; III: Brûle parfois, bronze assez facilement; IV: Brûle rarement, bronze facilement. Seuls ces 4 phototypes étaient représentés dans cette population de type Caucasien.

D) Discussion et mise en regard de la littérature

Cette étude portait sur un nombre important de déterminants potentiels du statut en vitamine D pris en compte simultanément dans une même population. Dans cette large population d'adultes de type Caucasien d'âge moyen, les caractéristiques suivantes étaient associées de manière indépendante avec un statut en vitamine D plus faible et donc avec un risque plus important de présenter une carence ou une insuffisance en vitamine D : sexe féminin, sous-poids ou surpoids, faible activité physique, faible exposition solaire, faible apport en alcool, génotype GC rs4588 TT ou GC rs7041 CC.

Comme usuellement observé [65, 102, 224], les femmes présentaient un risque plus important d'être en insuffisance ou en carence de vitamine D. Egalement cohérent avec des études précédentes [75, 225, 226], le surpoids et l'obésité étaient associés à des risques plus élevés d'être en carence de vitamine D. Dans une étude d'intervention menée sur des femmes ménopausées en surpoids ou obèses [227], la perte de poids était associée à une augmentation de la concentration sérique en vitamine D, renforçant ainsi la plausibilité d'une association causale. L'association entre le fait d'être en sous-poids et le statut en vitamine D a été peu étudiée mais nos résultats sont en accord avec le niveau de connaissances actuel [224]. Le fait de vivre à des latitudes plus élevées, un prélèvement sanguin en sortie d'hiver/début de printemps et une faible exposition solaire [5, 77, 228] ont été associés à un risque plus élevé d'être en carence de vitamine D dans notre étude ainsi que dans des études précédentes. Contrairement à certaines études qui utilisaient le temps passé en extérieur (jardin) [229] ou l'activité physique de loisir [230] comme marqueurs de l'exposition solaire, notre étude a permis de collecter des informations détaillées sur les pratiques d'exposition solaire (intensité, durée, fréquence, protection, etc.) et de les compiler sous la forme d'un score validé [197, 198, 200]. Il est intéressant de noter qu'une amélioration du statut en vitamine D était visible dès le 2^{ème} quartile de score d'exposition solaire et que cette amélioration était relativement stable dans les quartiles 3 et 4. Ceci suggère que même une exposition solaire quotidienne très modérée pourrait contribuer à augmenter la synthèse de vitamine D et à améliorer la concentration en 25(OH)D. Ces résultats sont donc tout à fait compatibles avec les recommandations visant à éviter l'exposition solaire intensive, en lien avec prévention des cancers de la peau et des autres dommages liés aux UV.

Une association linéaire positive était également observée entre le niveau d'activité physique et le statut en vitamine D dans notre étude, en cohérence avec des études précédentes [76, 79, 231]. En particulier, ces résultats étaient ajustés sur l'exposition solaire et restaient statistiquement significatifs après ajout de variables reflétant la pratique de sports en montagne, de sports nautiques ou d'activité en extérieur. Ceci suggère donc que l'activité physique en elle-même pourrait être associée de manière causale avec le statut en vitamine D, comme précédemment observé dans des études ayant mesuré à la fois l'exposition solaire et l'activité physique [232, 233].

Dans notre population, la consommation d'alcool (modérée) était positivement corrélée avec le statut en vitamine D. Bien qu'il ait été observé qu'une consommation excessive d'alcool était associée à un moindre statut en vitamine D [152], nos résultats concordent avec de précédentes

études dans lesquelles une consommation d'alcool modérée était associée à un meilleur statut en vitamine D [75-79, 151, 234, 235]. L'aspect causal de cette relation reste cependant incertain et elle pourrait donc être liée à des facteurs de confusion résiduels. Cependant, dans notre étude, cette association était toujours observée après de nombreux ajustements sur des facteurs de confusion potentiels. Des études précédentes ont par ailleurs montré que la densité minérale osseuse serait plus élevée chez les femmes avec une consommation d'alcool modérée [77, 236]. Les processus biochimiques pouvant expliquer la relation entre la consommation d'alcool et le statut en vitamine D sont complexes. Une hypothèse possible serait que l'alcool pourrait être un suppresseur de la sécrétion de PTH et pourrait donc être responsable d'une diminution de la conversion de la 25(OH)D en 1,25(OH)₂D [237, 238]. La 25(OH)D non convertie expliquerait alors l'augmentation de la concentration sanguine en 25(OH)D. Cependant, même si une association causale venait à être confirmée par de futures études, la consommation d'alcool, même modérée, ne devrait évidemment pas être recommandée comme levier possible pour améliorer le statut en vitamine D étant donné ces effets délétères reconnus vis-à-vis d'autres issues de santé, notamment le risque de cancer [239].

Différents aspects méthodologiques pourraient expliquer l'absence d'association observée entre les apports alimentaires en vitamine D et le statut en vitamine D, par exemple la possibilité d'une relation non linéaire pour de faibles niveaux d'apports ou les limites inhérentes aux méthodes d'estimations des consommations alimentaires. Cependant, l'apport alimentaire moyen en vitamine D dans notre population (2,9µg/jour) était inférieur à l'apport recommandé pour les adultes français de moins de 75 ans et aux recommandations internationales (voir Introduction I.A)2.) [21, 22]. Ceci explique donc largement pourquoi aucune association n'a été observée entre les apports alimentaires en vitamine D et le statut en vitamine D dans notre population, ce qui est cohérent avec différentes études menées en Europe [79, 102, 240]. En effet, en France, les sources alimentaires de vitamine D sont plus limitées que dans d'autres pays dans lesquels l'apport alimentaire en vitamine D a été associé positivement au statut [74, 241, 242]. Certains aliments enrichis en vitamine D (produits laitiers, huiles végétales) ont été introduits en France au cours de la dernière décennie. Ainsi, il pourrait être intéressant de reproduire cette étude en utilisant des données plus récentes. Toutefois, l'apport alimentaire moyen dans notre étude était similaire à celui observé dans une étude française représentative (ENNS : 2,6µg/jour) [243].

La prise de compléments alimentaires n'était pas autorisée pour les participants à l'essai SU.VI.MAX. L'influence de ces produits n'a donc pas pu être étudiée dans cette étude. Toutefois, le statut en vitamine D observé chez les individus ayant déclaré avoir pris des médicaments contenant de la vitamine D était plus élevé que chez les individus non-supplémentés (35,1 vs. 20,0ng/ml).

Le gène *GC* codant pour la VDBP, protéine de transport de la vitamine D, comporte au moins 6 polymorphismes dont 2 avec une fréquence relativement importante (rs7041 et rs4588) [244]. Ces deux SNPs étaient fortement et indépendamment associés au statut en vitamine D dans notre population, comme observés dans des études précédentes [76, 82, 84, 85]. Les polymorphismes du gène *GC* conduisent à des formes polymorphiques de la VDBP ayant des affinités différentes pour la 25(OH)D [245].

Les facteurs corrélés à la concentration en PTH étaient globalement les mêmes que ceux associés au statut en vitamine D. Cependant, bien que l'apport en vitamine D ne fût pas associé au statut en vitamine D, il était néanmoins associé inversement à la concentration en PTH. Ceci nécessite d'être confirmé par de futures études épidémiologiques et expérimentales.

En termes d'impact de santé publique, notre étude a permis d'identifier différents facteurs modifiables liés au risque d'être en carence de vitamine D. En particulier, un impact potentiel non négligeable sur le statut en vitamine D (+32,7%) a été observé pour le fait de maintenir un poids normal comparé au fait d'être en surpoids ou obèse. Vimalleswaran et al. [246] ont par ailleurs démontré la causalité de cette association en utilisant une analyse de randomisation Mendélienne bidirectionnelle sur plusieurs cohortes dont les conclusions étaient que des interventions en population pour réduire l'IMC seraient d'intérêt pour réduire la prévalence de la carence en vitamine D. D'autres potentiels impacts de facteurs modifiables sur le statut en vitamine D était de +15% pour ceux pratiquant au moins 1h/jour d'équivalent marche comparé à une plus faible activité physique et +16,3% pour une exposition solaire quotidienne modérée comparée à une exposition très faible.

Pour conclure, cette étude a permis d'obtenir un aperçu global des déterminants potentiels du statut en vitamine D dans un même large échantillon d'adultes d'âge moyen, incluant des informations détaillées sur l'exposition solaire, les apports en vitamine D, des polymorphismes génétiques clés et les facteurs sociodémographiques et de mode de vie.

Cette approche a permis d'identifier des facteurs influençant indépendamment le statut en vitamine D. Certains déterminants n'étaient pas modifiables, comme le sexe, l'âge ou les polymorphismes du gène GC. En revanche, bien que les apports alimentaires en vitamine D n'aient pas été associés au statut dans notre étude, certains facteurs modifiables ont été identifiés comme une exposition solaire quotidienne (même modérée), la pratique d'une activité physique et le maintien d'un poids normal. Ces facteurs pourraient faire l'objet d'actions de santé publique visant à améliorer le statut en vitamine D de la population, tout en évitant une exposition solaire intense/prolongée, en cohérence avec les recommandations liées à la prévention des cancers de la peau.

III. Score de prédiction d'une insuffisance en vitamine D

Deschasaux M, Souberbielle JC, Andreeva VA, Sutton A, Charnaux N, Kesse-Guyot E, Latino-Martel P, Druesne-Pecollo N, Szabo de Edelenyi F, Galan P, Hercberg S, Ezzedine K*, Touvier M* (*equally contributed). Quick and Easy Screening for Vitamin D Insufficiency in Adults: A Scoring System to Be Implemented in Daily Clinical Practice. **Medicine (Baltimore)**. 2016 Feb;**95(7):e2783**.

L'article issu de ces résultats est présenté en **Annexe 3**.

A) Population d'étude

Cette étude a été menée en deux phases : une première phase de développement d'un score de prédiction d'une insuffisance en vitamine D (VDIP) réalisée sur un échantillon issu de la cohorte SU.VI.MAX et une seconde phase de validation réalisée sur un échantillon issu de la cohorte NutriNet-Santé.

L'échantillon issu de la cohorte SU.VI.MAX était composé des 1850 témoins de l'étude cas-témoin nichée « vitamine D et cancer » pour lesquels la concentration plasmatique en 25(OH)D était disponible. Nous avons exclu les participants ayant déclaré : une prise de médicaments contenant de la vitamine D au moment de l'inclusion (N=12), des antécédents d'épilepsie (N=3) ou des antécédents d'insuffisance rénale (N=3) et les participants âgés de moins de 45 ans (N=275), conduisant à 1557 participants pour les analyses. Les participants âgés de moins de 45 ans ont été exclus pour prendre en compte le différentiel d'âge à l'inclusion dans la cohorte SU.VI.MAX entre les hommes (45 ans) et les femmes (35 ans).

L'échantillon issu de la cohorte NutriNet-Santé était composé des 860 participants pour lesquels la concentration plasmatique en 25(OH)D était disponible. Nous avons exclu les participants ayant déclaré une prise de compléments alimentaires à base de vitamine D (N=79), conduisant à 781 participants pour les analyses.

B) Analyses statistiques

Pour le développement du score VDIP, un modèle de régression logistique multivarié a été utilisé sur les données de la cohorte SU.VI.MAX pour modéliser le risque de présenter une insuffisance en vitamine D (concentration plasmatique en 25(OH)D \leq 20ng/ml). Le modèle était ajusté sur l'âge et incluait (sur la base du travail précédent, Partie 1. II.) : le sexe, l'IMC, le niveau d'activité physique, la latitude du lieu d'habitation, le mois de prélèvement sanguin, l'exposition solaire habituelle autoévaluée et le phototype de Fitzpatrick. Le même modèle de régression logistique multivariée a été utilisé pour l'échantillon de validation issu de la cohorte NutriNet-Santé.

Pour construire le score VDIP, des points ont été attribués pour toutes les caractéristiques associées avec le risque d'insuffisance en vitamine D en utilisant la valeur de l'OR correspondant dans le modèle de régression logistique de l'échantillon SU.VI.MAX arrondie à 0,5 près pour faciliter le calcul. Les points attribués ont ensuite été sommés pour chaque participant. Un score plus élevé reflétait ainsi un plus grand risque d'être en insuffisance de vitamine D.

Dans l'échantillon SU.VI.MAX, des analyses de sensibilité ont été conduites en introduisant des points pour les apports alimentaires en vitamine D et pour les deux SNPs du gène *GC* dans le score VDIP, et en excluant les participants diagnostiqués avec une maladie cardiovasculaire ou un diabète à l'inclusion.

Lorsque plus de 5% des données étaient manquantes, une « classe manquante » a été introduite dans le modèle.

Dans les deux échantillons, des courbes ROC (Receiver Operating Characteristic) ont été obtenues (sensibilité vs. 1-spécificité) à partir d'un modèle de régression logistique visant à prédire l'insuffisance en vitamine D à partir du score VDIP (variable explicative). La sensibilité, la spécificité, les valeurs prédictives positives et négatives (VPP, VPN) ont été calculées pour chaque valeur du score (**Tableau 19**) et l'aire sous la courbe ROC a été estimée.

Tableau 19 Sensibilité, spécificité, VPP et VPN du score VDIP pour prédire une insuffisance en vitamine D

	25(OH)D ≤ 20ng/ml I+	25(OH)D > 20ng/ml I-
Score VDIP ≥ seuil choisi T+	Sensibilité : P(T+ sachant I+) VPP : P(I+ sachant T+)	
Score VDIP < seuil choisi T-		Spécificité : P(T- sachant I-) VPN : P(I- sachant T-)

Pour une valeur seuil de score donnée, la sensibilité correspond à la probabilité d'identifier correctement un individu avec une insuffisance en vitamine D (vrais positifs) et la spécificité correspond à la probabilité d'identifier correctement un individu ne présentant pas une insuffisance en vitamine D (vrais négatifs). La valeur prédictive positive correspond à la probabilité qu'un individu ayant un score ≥ seuil présente effectivement une insuffisance en vitamine D et la valeur prédictive négative correspond à la probabilité qu'un individu ayant un score < seuil ne présente pas d'insuffisance en vitamine D. L'AUC représente la capacité du test à mesurer la réalité, un test idéal ayant une AUC de 1. Dans notre étude, l'AUC reflète la capacité du score VDIP à identifier correctement les individus présentant une insuffisance en vitamine D.

C) Résultats

La concentration plasmatique moyenne en 25(OH)D était de 20,2±10,4ng/ml dans notre échantillon SU.VI.MAX de développement (N=1557) et de 24,1±11,7ng/ml dans notre échantillon NutriNet-Santé de validation (N=781). Plus de la moitié (57,0%) des participants de l'échantillon SU.VI.MAX présentait une concentration plasmatique en 25(OH)D ≤20ng/ml (40,8% dans l'échantillon NutriNet-Santé).

Une description des deux populations et les résultats des modèles de régression logistique multivariés sont présentés dans la **Tableau 20**. Comme attendu au vu des résultats obtenus lors de l'étude des déterminants du statut en vitamine D (Partie 1. II.), l'insuffisance en vitamine D dans la cohorte SU.VI.MAX (âge médian à l'inclusion : 53 ans) était associée avec le fait d'être une femme, d'être en surpoids ou obèse, de pratiquer une activité physique irrégulière ou <1h/jour d'équivalent marche, de vivre à des latitudes plus élevées (Nord), d'avoir été prélevé en hiver ou au début du printemps, d'estimer avoir une exposition solaire habituelle modérée ou faible et d'avoir une peau claire (phototype de Fitzpatrick I ou II).

Dans la cohorte NutriNet-Santé (âge médian à l'inclusion : 47 ans), les mêmes caractéristiques (incluant également les phototypes de Fitzpatrick de type peau foncée, V et VI) étaient associées au risque de présenter une insuffisance en vitamine D exceptés le niveau d'activité physique et le sexe. Ces résultats étaient similaires après exclusion des participants avec des données manquantes (N=470).

Tableau 20 Associations entre le risque d'insuffisance en vitamine D et des facteurs individuels obtenues à partir de modèles de régression logistique non conditionnelle¹, cohortes SU.VI.MAX et NutriNet-Santé, France

	SU.VI.MAX N=1557				NutriNet-Santé N=781			
	≤20 vs >20ng/ml ²				≤20 vs >20ng/ml ²			
	N	OR	IC 95%	P ³	N	OR	IC 95%	P ³
Sexe				<0,0001 [§]				0,4 [§]
Homme	833	1			337	1		
Femme	724	1,81	1,43-2,29		444	0,88	0,62-1,24	
Indice de Masse Corporelle (kg/m ²)				0,007 [§]				0,0009 [§]
<18,5 (sous-poids)	27	1,86	0,77- 4,48		24	0,27	0,08-0,96	
≥18,5-<25 (poids normal)	889	1			529	1		
≥25-<30 (surpoids)	537	1,34	1,04-1,71		182	1,58	1,07-2,32	
≥30 (obésité)	104	1,99	1,23-3,22		46	2,72	1,37-5,39	
Activité physique				<0,0001				0,3 [§]
Irrégulière - Faible	364	1,74	1,31-2,32		170	1,33	0,86-2,06	
<1h/jour d'équivalent marche -Modérée	438	1,43	1,10-1,85		291	1,08	0,74-1,58	
≥1h/jour d'équivalent marche -Forte	755	1			182	1		
<i>Classe manquante</i>	/	/			46	0,76	0,42-1,36	
Latitude ⁴				<0,0001				0,0001
Quartile 1	394	1			218	1		
Quartile 2	416	1,07	0,78-1,48		190	1,16	0,75-1,82	
Quartile 3	355	1,79	1,29-2,48		171	1,41	0,86-2,29	
Quartile 4	392	2,00	1,45-2,77		202	2,44	1,57-3,82	
Période de prélèvement				<0,0001 [§]				0,001 [§]
Octobre-Novembre	265	1			129	1		
Décembre-Janvier	520	1,56	1,11-2,18		217	1,91	1,10-3,34	
Février-Mars	604	2,68	1,96-3,69		341	2,91	1,70-4,99	
Avril-Mai	168	2,21	1,42-3,46		94	2,03	1,04-3,98	
Exposition solaire habituelle				<0,0001				0,06 [§]
(Très) faible	458	3,01	2,02-4,50		83	2,21	0,98-4,98	
Modérée	931	1,51	1,06-2,16		380	1,45	0,73-2,88	
Forte	168	1			54	1		
<i>Classe manquante</i>	/	/			264	1,04	0,50-2,17	
Phototype de Fitzpatrick ⁵				0,06				0,003 [§]
I	62	1,41	0,74-2,67		34	1,11	0,48-2,58	
II	335	1,39	0,97-1,97		166	1,70	1,03-2,80	
III	877	1,21	0,91-1,62		286	1,12	0,71-1,76	
IV	283	1			149	1		
V	/	/			38	5,40	2,32-12,6	
VI	/	/			25	1,24	0,49-3,17	
<i>Classe manquante</i>	/	/			83	1,56	0,80-3,03	

¹ Modèles de régression logistique non conditionnelle multivariée ajustés sur l'âge (<40/40-44/45-49/50-54/55-65ans) et incluant tous les facteurs individuels présents dans la table (sexe, IMC, activité physique, latitude, période de prélèvement, exposition solaire habituelle et phototype de Fitzpatrick).

² Nombre de participants avec une concentration en 25(OH)D ≤20ng/ml / >20ng/ml dans les cohortes SU.VI.MAX : 888/669 et NutriNet-Santé : 319/462.

³ P global (§) ou P de tendance linéaire.

⁴ Seuils pour les quartiles de latitude (°) : 45,3/48,0/48,5 (SU.VI.MAX) et 43,4/45,5/48,5 (NutriNet-Santé)

⁵ I : Brûle toujours, ne bronze jamais ; II : Brûle facilement, bronze difficilement ; III : Brûle parfois, bronze assez facilement ; IV : Brûle rarement, bronze facilement ; V : Brûle rarement, bronze intensément ; VI : Ne brûle jamais, fortement pigmentée.

Un système de score a ensuite été développé à partir de paramètres estimés dans la régression logistique conduite sur l'échantillon SU.VI.MAX (**Tableau 21**). Des points ont été attribués aux caractéristiques associées au risque d'être en insuffisance de vitamine D (ORs arrondis à 0,5 près,

sauf pour le fait d'être obèse pour lequel 0,5 points supplémentaires ont été attribués car l'obésité est un déterminant majeur de l'insuffisance en vitamine D [247]). Comme évoqué ci-dessus, les phototypes de Fitzpatrick de type V et VI (peaux foncées) n'étaient pas représentés dans l'échantillon SU.VI.MAX. Nous avons donc extrapolé les points attribués aux phototypes I et II pour les phototypes V et VI afin de valider le score dans la cohorte NutriNet-Santé, dans laquelle ces phototypes étaient présents.

Tableau 21 Calcul du score : points attribués aux caractéristiques individuelles¹

Caractéristiques	Points
Sexe	
Homme	0
Femme	1,5
Statut pondéral (IMC, kg/m ²)	
<25 (poids normal)	0
≥25-<30 (surpoids)	1,5
≥30 (obésité)	2,5
Activité physique	
Irrégulière	1,5
<1h/jour d'équivalent marche	1,5
≥1h/jour d'équivalent marche	0
Latitude du lieu d'habitation	
<48°N (en France : Sud d'une ligne Bretagne-Alsace)	0
≥48°N (en France : Nord d'une ligne Bretagne-Alsace)	2
Période de prélèvement sanguin	
Juin-Novembre	0
Décembre-Janvier	1,5
Février-Mars	2,5
Avril-Mai	2
Exposition solaire habituelle	
(Très) faible	3
Modérée	1,5
Forte	0
Fitzpatrick phototype	
I : Brûle toujours, ne bronze jamais	1,5
II : Brûle facilement, bronze difficilement	1,5
III : Brûle parfois, bronze assez facilement	0
IV : Brûle rarement, bronze facilement	0
V : Brûle rarement, bronze intensément ²	1,5
VI : Ne brûle jamais, forte pigmentation ²	1,5
Total³	

¹ Les caractéristiques individuelles avec des points >0 sont celles pour lesquelles une augmentation de risque d'insuffisance en vitamine D était observée dans le modèle de régression logistique à partir des données SU.VI.MAX (Table 19). Les points étaient attribués en fonction de la valeur de l'OR obtenu dans la régression logistique SU.VI.MAX (Table 19) arrondies à 0,5 près pour faciliter le calcul du score. 0,5 points supplémentaires ont été attribués à la caractéristique « obésité » étant donnée l'influence majeure de cette caractéristique sur le statut en vitamine D.

² Les phototypes de Fitzpatrick V et VI n'étaient pas représentés dans la cohorte SU.VI.MAX. Nous avons donc extrapolé les points attribués aux phototypes « peau claire » (I et II) aux phototypes « peau foncée » (V et VI) afin de valider le score dans la cohorte NutriNet-Santé, dans laquelle ces phototypes V et VI étaient représentés.

³ Le score final est compris entre 0 et 14,5.

Les informations nécessaires au calcul du score VDIP pourraient être récoltées à l'aide d'une checklist simple complétée en 5 minutes (voir **Tableau 22**).

Tableau 22 Proposition de checklist pouvant être utilisée pour collecter les données individuelles nécessaires au calcul du score VDIP

Pour les patients		Pour les praticiens	
Questions	Réponses	Interprétation	Points
Date :		Juin-Novembre Décembre-Janvier Février-Mars Avril-Mai	0 1,5 2,5 2
Sexe :	Homme <input type="checkbox"/> Femme <input type="checkbox"/>		0 1,5
Taille :		IMC < 25 kg/m ² IMC entre 25 et 30 kg/m ² IMC ≥ 30 kg/m ²	0 1,5 2,5
Poids :			
Code postal :		Latitude < 48°N ¹ Latitude ≥ 48°N	0 2
Pratiquez-vous une activité physique régulière ? - Si oui, estimez-vous cette activité physique équivalente à plus d'1 heure de marche par jour ?	Non <input type="checkbox"/> Non <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/>	Irrégulière < 1h/jour d'équivalent marche ≥ 1h/jour d'équivalent marche	1,5 1,5 0
Comment estimez-vous votre exposition solaire habituelle ?	(Très) faible <input type="checkbox"/> Modérée <input type="checkbox"/> Forte <input type="checkbox"/>		3 1,5 0
Quelle est la réaction de votre peau après une première exposition au soleil en été en l'absence de toute protection solaire ?	Brûle toujours, ne bronze jamais <input type="checkbox"/> Brûle facilement, bronze difficilement <input type="checkbox"/> Brûle parfois, bronze assez facilement <input type="checkbox"/> Brûle rarement, bronze facilement <input type="checkbox"/> Brûle rarement, bronze intensément <input type="checkbox"/> Ne brûle jamais, forte pigmentation <input type="checkbox"/>	Phototype de Fitzpatrick I Phototype de Fitzpatrick II Phototype de Fitzpatrick III Phototype de Fitzpatrick IV Phototype de Fitzpatrick V Phototype de Fitzpatrick VI	1,5 1,5 0 0 1,5 1,5
			Total²

¹ Ce seuil pour la latitude doit être traduit en région en fonction des pays. En France, ce seuil correspond à une ligne reliant la Bretagne à l'Alsace.

² Un score compris entre 7 et 9 peut indiquer un risque modéré d'insuffisance en vitamine D et un ≥ 9 un risque élevé. D'autres seuils peuvent être choisis, à la discrétion du praticien.

En **Tableau 23**, nous présentons la distribution du score VDIP dans l'échantillon SU.VI.MAX avec les valeurs de sensibilité, spécificité, VPP et VPN correspondantes. Le score médian était de 7,0 (min=0 ; Q1 : 5,5 ; Q3 : 9,0 ; max=14,0). Un score ≥ 7 était observé dans 54,3% de l'échantillon avec les propriétés suivantes : sensibilité=0,67, spécificité=0,63, VPP=0,70 et VPN=0,59. Au total, pour 8,9% des participants ayant un score ≥ 7 , la concentration en 25(OH)D était $>30\text{ng/ml}$, et pour 1,8% elle était $>40\text{ng/ml}$. Parmi ceux ayant un score ≥ 9 , les proportions correspondantes étaient de 4,3% et 1,0%.

Tableau 23 Sensibilité et spécificité de la détection d'une insuffisance en vitamine D (25(OH)D $\leq 20\text{ng/ml}$) pour chaque valeur du score VDIP, N=1557, cohorte SU.VI.MAX, France

Score	N	%	Sensibilité	Spécificité	Vrai positifs	Faux positifs	Valeur Prédictive Positive ¹	Valeur Prédictive Négative ²
≥ 14	1	0,06	0,00	1,00	0	1	/	0,43
$\geq 13,5$	7	0,4	0,01	1,00	5	2	0,71	0,43
≥ 13	13	0,8	0,01	1,00	10	3	0,77	0,43
$\geq 12,5$	24	1,6	0,02	0,99	19	5	0,79	0,43
≥ 12	57	3,7	0,06	0,99	49	8	0,86	0,44
$\geq 11,5$	79	5,1	0,08	0,99	69	10	0,87	0,45
≥ 11	111	7,1	0,10	0,97	93	18	0,84	0,45
$\geq 10,5$	181	11,6	0,17	0,95	148	33	0,82	0,46
≥ 10	237	15,2	0,22	0,94	195	42	0,82	0,48
$\geq 9,5$	290	18,6	0,27	0,92	236	54	0,81	0,49
≥ 9	396	25,4	0,36	0,88	316	80	0,80	0,51
$\geq 8,5$	492	31,6	0,43	0,84	385	107	0,78	0,53
≥ 8	569	36,6	0,49	0,80	433	136	0,76	0,54
$\geq 7,5$	725	46,6	0,59	0,69	520	205	0,72	0,56
≥ 7	845	54,3	0,67	0,63	595	250	0,70	0,59
$\geq 6,5$	926	59,5	0,72	0,57	635	291	0,69	0,60
≥ 6	1086	69,8	0,81	0,45	719	367	0,66	0,64
$\geq 5,5$	1178	75,7	0,86	0,38	765	413	0,65	0,68
≥ 5	1226	78,8	0,89	0,34	787	439	0,64	0,69
$\geq 4,5$	1360	87,4	0,94	0,22	835	525	0,61	0,73
≥ 4	1387	89,1	0,95	0,19	845	542	0,61	0,75
$\geq 3,5$	1410	90,6	0,96	0,17	854	556	0,61	0,77
≥ 3	1514	97,3	0,99	0,05	880	634	0,58	0,81
$\geq 2,5$	1520	97,7	0,99	0,04	880	640	0,58	0,78
≥ 2	1522	97,8	0,99	0,04	881	641	0,58	0,80
$\geq 1,5$	1555	99,9	1,00	0,00	888	667	0,57	1,00
≥ 0	1557	100	1,00	0,00	888	669	0,57	/

¹ Valeur prédictive positive = $\frac{\text{Vrais positifs (individus avec un score} \geq \text{seuil et une 25(OH)D} \leq 20\text{ng/ml)}}{\text{Total positifs (individus avec un score} \geq \text{seuil)}}$, correspond à la proportion de participants présentant une insuffisance en vitamine D parmi les individus ayant un score supérieur au seuil choisi

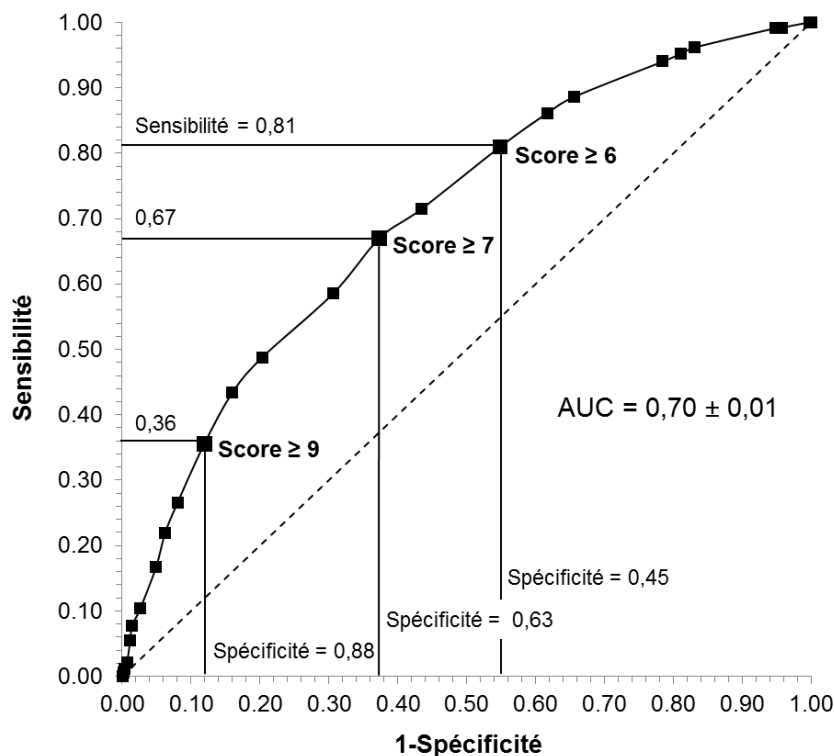
² Valeur prédictive négative = $\frac{\text{Vrais négatifs (individus avec un score} < \text{seuil et une 25(OH)D} > 20\text{ng/ml)}}{\text{Total négatifs (individus avec un score} < \text{cut-off)}}$, correspond à la proportion de participants ne présentant pas une insuffisance en vitamine D parmi les individus ayant un score inférieur au seuil choisi

25(OH)D, 25-hydroxivitamine D.

La courbe ROC associée est présentée en **Figure 9**. L'AUC était de $0,70 \pm 0,01$. Des résultats similaires ont été observés après exclusion des participants ayant déclaré une maladie cardiovasculaire ou un diabète à l'inclusion (N=1476, AUC= $0,70 \pm 0,01$). De même, une AUC similaire a été observée avec un score VDIP modifié incluant les SNPs GC rs4588 (0 point pour le génotype GG, 1,5 pour GT et 2 pour TT) et rs7041 (0 point pour le génotype CC, 1,5 pour AC et AA) (AUC= $0,71 \pm 0,01$) ou avec un score VDIP modifié incluant les apports alimentaires en vitamine D (0

point pour les quartiles 3 et 4, 1,5 pour les quartiles 1 et 2 ; AUC=0,70±0,01) [données non tabulées].

Figure 9 Courbe ROC pour la détection d'une insuffisance en vitamine D (25(OH)D ≤20ng/ml) avec le score VDIP, N=1557, cohorte SU.VI.MAX, France



Légende : Sur cette figure, la courbe ROC du score VDIP (ligne pleine) représente la sensibilité en fonction de (1-spécificité). On peut y lire qu'un score VDIP ≥7 correspond à une sensibilité de 0,67 et une spécificité de 0,63. La première bissectrice (ligne en pointillés) représente la courbe ROC d'un test dont les résultats ne seraient pas meilleurs que le hasard. Plus une courbe ROC est éloignée de cette première bissectrice en direction du coin supérieur gauche, meilleure est la capacité de détection du test.

25(OH)D, 25-hydroxivitamine D ; ROC, Receiver Operating Characteristic ; AUC, Aire sous la courbe ROC.

Dans l'échantillon de validation issu de la cohorte NutriNet-Santé (**Tableau 24**), le score médian était de 6,0 (min=0 ; Q1 : 4,5 ; Q3 : 8,0 ; max=14,5). Un score ≥7 était observé dans 45,2% de l'échantillon, avec les propriétés suivantes : sensibilité=0,61, spécificité=0,66, VPP=0,55 et VPN=0,71. Au total, pour 19,3% des sujets avec un score ≥7, la concentration en 25(OH)D était >30ng/ml, et pour 7,6% elle était >40ng/ml. Parmi les sujets avec un score VDIP ≥9, les proportions correspondantes étaient 17,9% et 6,4%. La courbe ROC associée est présentée en **Figure 10**. L'AUC était de 0,67±0,02.

Tableau 24 Sensibilité et spécificité de la détection d'une insuffisance en vitamine D (25(OH)D ≤20ng/ml) pour chaque valeur du score VDIP, N=781, cohorte NutriNet-Santé, France

Score	N	%	Sensibilité	Spécificité	Vrai positifs	Faux positifs	Valeur Prédictive Positive ¹	Valeur Prédictive Négative ²
=14,5	1	0,1	0,00	1,00	0	1	0,00	0,59
≥13	2	0,3	0,00	1,00	1	1	0,50	0,59
≥12,5	3	0,4	0,01	1,00	2	1	0,67	0,59
≥12	12	1,5	0,03	0,99	8	4	0,67	0,60
≥11,5	22	2,8	0,05	0,99	16	6	0,73	0,60
≥11	27	3,5	0,07	0,99	21	6	0,78	0,60
≥10,5	53	6,8	0,12	0,97	38	15	0,72	0,61

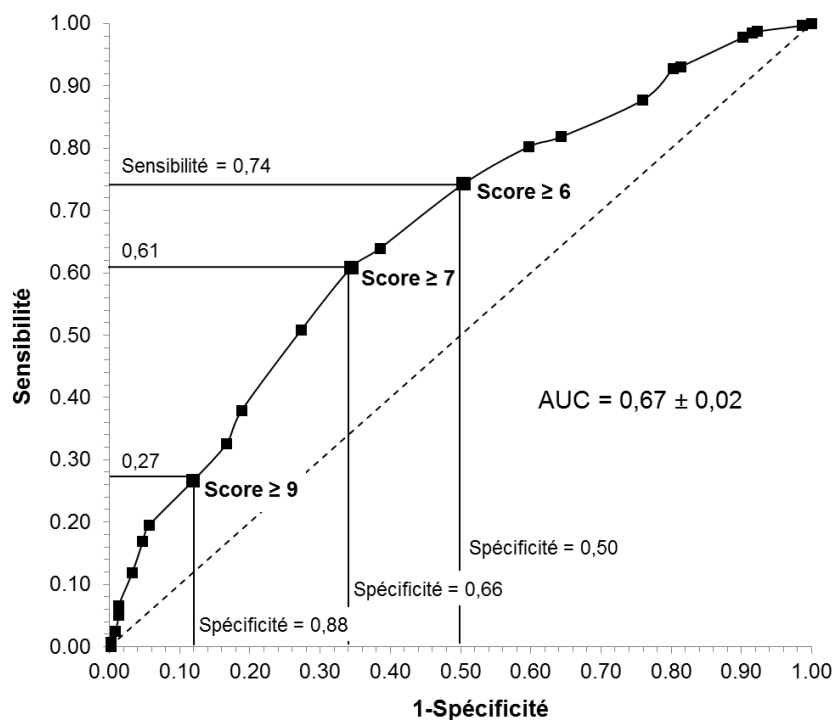
≥10	76	9,7	0,17	0,95	54	22	0,71	0,62
≥9,5	88	11,3	0,19	0,94	62	26	0,70	0,63
≥9	140	17,9	0,27	0,88	85	55	0,61	0,63
≥8,5	181	23,2	0,33	0,83	104	77	0,57	0,64
≥8	208	26,6	0,38	0,81	121	87	0,58	0,65
≥7,5	288	36,9	0,51	0,73	162	126	0,56	0,68
≥7	353	45,2	0,61	0,66	194	159	0,55	0,71
≥6,5	382	48,9	0,64	0,61	204	178	0,53	0,71
≥6	470	60,2	0,74	0,50	237	233	0,50	0,74
≥5,5	532	68,1	0,80	0,40	256	276	0,48	0,75
≥5	558	71,5	0,82	0,36	261	297	0,47	0,74
≥4,5	631	80,8	0,88	0,24	280	351	0,44	0,74
≥4	667	85,4	0,93	0,20	296	371	0,44	0,80
≥3,5	673	86,2	0,93	0,19	297	376	0,44	0,80
≥3	729	93,3	0,98	0,10	312	417	0,43	0,87
≥2,5	737	94,4	0,98	0,08	314	423	0,43	0,89
≥2	741	94,9	0,99	0,08	315	426	0,43	0,90
≥1,5	774	99,1	1,00	0,01	318	456	0,41	0,86
≥0	781	100	1,00	0,00	319	462	0,41	/

¹ Valeur prédictive positive = $\frac{\text{Vrais positifs (individus avec un score} \geq \text{seuil et une } 25(\text{OH})\text{D} \leq 20\text{ng/ml})}{\text{Total positifs (individus avec un score} \geq \text{seuil)}}$, correspond à la proportion de participants présentant une insuffisance en vitamine D parmi les individus ayant un score supérieur au seuil choisi

² Valeur prédictive négative = $\frac{\text{Vrais négatifs (individus avec un score} < \text{seuil et une } 25(\text{OH})\text{D} > 20\text{ng/ml})}{\text{Total négatifs (individus avec un score} < \text{cut-off)}}$, correspond à la proportion de participants ne présentant pas une insuffisance en vitamine D parmi les individus ayant un score inférieur au seuil choisi

25(OH)D, 25-hydroxivitamine D.

Figure 10 Courbe ROC pour la détection d'une insuffisance en vitamine D ($25(\text{OH})\text{D} \leq 20\text{ng/ml}$) avec le score VDIP, N=781, cohorte NutriNet-Santé, France



Légende : voir Figure 1

25(OH)D, 25-hydroxivitamine D ; ROC, Receiver Operating Characteristic ; AUC, Aire sous la courbe ROC.

D) Discussion et mise en regard de la littérature

Dans cette étude, un système de score simple d'utilisation basé sur des caractéristiques individuelles facilement accessibles a été mis au point dans une population d'adultes français d'âge moyen non-supplémentés afin de prédire l'insuffisance en vitamine D. Le calcul du score VDIP s'appuie sur des caractéristiques individuelles associées avec le statut en vitamine D (sexe, IMC, activité physique, latitude du lieu d'habitation, saison, exposition solaire habituelle et phototype de Fitzpatrick) qui pourraient être facilement collectées en pratique clinique en utilisant une courte checklist (**Tableau 22**). Le score VDIP montre de bonnes performances avec une AUC de $0,70 \pm 0,01$ ($0,67 \pm 0,02$ dans l'échantillon de validation). Ce score constitue ainsi un outil qui pourrait être intégré en pratique clinique afin de limiter les dosages et suppléments non nécessaires.

Comme indiqué par la VPP, 70% des participants avec un score ≥ 7 présentaient une insuffisance en vitamine D (80% de ceux avec un score ≥ 9). Ainsi, tout patient avec un score VDIP compris entre 7 et 9 pourrait être considéré comme étant à risque modéré d'être en insuffisance de vitamine D et tout patient avec un score ≥ 9 pourrait être considéré comme étant à risque élevé.

En pratique, si un patient présente un score supérieur au seuil choisi, une complémentation en vitamine D pourrait lui être recommandée. Le choix de ce seuil dépend du contexte et des objectifs cliniques et/ou de santé publique et devrait être validé en laboratoire. C'est pourquoi l'ensemble des caractéristiques (sensibilité, spécificité, VPP et VPN) associées à chaque valeur du score sont fournies en **Tableau 23** et **Tableau 24**. Un seuil de 7 représente un certain équilibre entre sensibilité élevée et spécificité élevée. Si l'objectif est de détecter un maximum d'individus avec une insuffisance en vitamine D (sensibilité plus importante), alors des seuils moins élevés comme 5,5 ou 6 pourraient être choisis. Cependant, cette stratégie conduirait également à une plus grande proportion d'individus détectés à tort (faux positifs) du fait d'une moindre spécificité. Au contraire, si l'objectif est de minimiser la proportion d'individus détectés à tort (spécificité plus importante), alors des seuils plus élevés comme 9 pourraient être choisis. Cependant, cette stratégie conduirait également à une diminution de la sensibilité et donc à une diminution du nombre d'individus détectés parmi ceux présentant une insuffisance en vitamine D.

Parmi les individus qui seraient détectés avec une insuffisance en vitamine D en utilisant le score VDIP, une proportion faible mais toutefois non négligeable (en particulier dans l'échantillon de validation) présentait une concentration en 25(OH)D >40 ng/ml. Des recommandations prudentes de complémentation sont donc de rigueur à l'image de celles proposées par l'IOM [22, 73].

Un nombre limité d'études précédentes a déjà proposé des systèmes de score pour prédire le statut en vitamine D, soit en tant que proxy pour la concentration en 25(OH)D dans de larges cohortes [75] soit avec pour objectif de détecter des individus à risque en pratique clinique [92-96]. Toutefois, la plupart de ces études : (1) étaient conduites sur des échantillons relativement réduits [93, 95, 96] ou sur des sous-groupes spécifiques de population [93], (2) incluait un nombre très limité de caractéristiques [92, 96] ou des caractéristiques qui ne sont pas mesurables de manière simple et rapide (comme les apports alimentaires en vitamine D ou une exposition UV précise) [75, 95], (3) utilisait des coefficients complexes ou difficiles à interpréter [75], (4) n'ont pas réalisé de validation dans un échantillon indépendant [92, 93, 95, 96]. Sohl et al. [94] sont les premiers à avoir développé des modèles pour prédire une insuffisance en vitamine D dans une population européenne âgée. Cette étude portait néanmoins sur des sujets âgés (âge moyen : 76 ans) et de fait incluait des indicateurs de fragilité associé au déclin cognitif et physique lié à l'âge,

contrairement au score VDIP qui a été construit pour être mis en place dans une population non-supplémentée d'adultes d'âge moyen non-institutionnalisés.

Ces scores précédents présentaient des performances similaires au nôtre pour la prédiction de l'insuffisance en vitamine D ($25(\text{OH})\text{D} \leq 20\text{ng/ml}$). Nabak et al. [93] ont observé une sensibilité/spécificité de 89%/35% au seuil sélectionné ; Lopes et al. [92] ont observé une AUC de 0,68 ; Tran et al. [95] ont observé une AUC de 0,73 ; Bolek-Berquist et al.[96] ont observé une sensibilité/spécificité de 79%/78% au seuil sélectionné (détection des individus avec une $25(\text{OH})\text{D} < 16\text{ng/ml}$) ; enfin Sohl et al. [94] ont observé une AUC de 0,78 (0,71 pour la validation externe).

Ainsi, le score VDIP développé ici prend en compte un nombre relativement faible de caractéristiques individuelles qui pourraient être collectées facilement avec une checklist simple. Ce système de score constitue donc une méthode non-invasive pour estimer de manière simple et rapide la susceptibilité de présenter une insuffisance en vitamine D. Nos analyses ont en effet montré que l'inclusion de caractéristiques qui nécessiteraient des mesures longues, coûteuses et/ou invasives comme les apports alimentaires en vitamine D ou les génotypes des SNPs GC rs4588 et rs7041 n'ont pas permis d'améliorer significativement les performances du score.

L'utilisation du score VDIP dans d'autres populations non-supplémentées habitant dans des pays développés nécessite de prendre en compte le fait qu'en France l'amplitude des latitudes de lieu d'habitation est relativement réduite et que les apports alimentaires en vitamine D sont relativement faibles et ne sont donc pas un déterminant majeur du statut en vitamine D [146]. Ceci pourrait être différent dans des pays avec des apports alimentaires en vitamine D plus élevés. Par ailleurs, ce score a été construit sur une population non-supplémentée en vitamine D (prise spontanée de compléments alimentaires proscrite au cours de l'essai SU.VI.MAX et exclusion des participants ayant déclaré prendre des médicaments à base de vitamine D). La complémentation/supplémentation en vitamine D est supposée avoir un impact important sur le statut en vitamine D. Cependant, l'objectif de cette étude était de fournir un outil permettant de détecter des individus à risque d'insuffisance en vitamine D avant toute décision médicale (et donc avant toute prise de compléments alimentaires ou médicaments).

Le score VDIP, développé et validé dans cette étude, a montré de bonnes performances pour identifier des adultes non-supplémentés d'âge moyen à risque d'insuffisance en vitamine D et qui pourraient bénéficier d'une complémentation.

Ce score a été construit pour pouvoir être utilisé facilement en pratique clinique en étant basé sur une checklist rapide pouvant être complétée dans les salles d'attente. Le calcul du score est donc simple et gratuit, ainsi, son potentiel comme premier outil de détection devrait être considéré.

Ce score pourrait permettre de mieux cibler les individus à risque d'insuffisance en vitamine D et ainsi de limiter la supplémentation systématique ou les dosages.

IV. Seuils de référence pour la PTH

Touvier M, Deschasaux M, Montourcy M, Sutton A, Charnaux N, Kesse-Guyot E, Fezeu LK, Latino-Martel P, Druesne-Pecollo N, Malvy D, Galan P, Hercberg S, Ezzedine K, Souberbielle JC. Interpretation of plasma PTH concentrations according to 25OHD status, gender, age, weight status, and calcium intake: importance of the reference values. *J Clin Endocrinol Metab.* 2014 Apr;99(4):1196-203.

L'article issu de ces résultats est présenté en **Annexe 4**.

A) Population d'étude

Cette étude portait sur l'échantillon de témoins de l'étude cas-témoin nichée dans la cohorte SU.VI.MAX. Parmi les 1850 participants éligibles, les individus suivants ont été exclus : ceux prenant un médicament contenant de la vitamine D (N=12), du phosphore (N=1) ou un diurétique (N=1), ceux présentant des antécédents d'épilepsie (N=3), d'insuffisance rénale (N=3) ou de maladie cœliaque (N=2) ou ceux ayant fourni moins de 2 enregistrements alimentaires de 24h valides au cours des deux premières années (N=4). Ainsi, 1824 sujets ont été utilisés pour les analyses

B) Analyses statistiques

La distribution de la concentration en PTH a été déterminée dans l'échantillon global, chez les individus avec une concentration en 25(OH)D ≥ 20 ng/ml et chez les individus avec une concentration en 25(OH)D ≥ 30 ng/ml.

La moyenne et l'écart type de la concentration en PTH ont été calculés en fonction du statut en vitamine D. Enfin, les percentiles extrêmes (2,5 et 97,5^{èmes}) ont été calculés au global et en fonction du statut en vitamine D (≥ 20 ng/ml et ≥ 30 ng/ml), du sexe, de l'âge, du statut pondéral, et de l'apport en calcium. La concentration en PTH ne pouvant être considérée comme strictement normale selon les résultats des tests de Shapiro-Wilk et de Kolmogorov-Smirnov, des méthodes non-paramétriques ont donc été utilisées.

Le coefficient de corrélation de Pearson entre les concentrations en PTH et en 25(OH)D a été également calculé puis l'association non-linéaire entre les concentrations plasmatiques en 25(OH)D et PTH a été modélisée en utilisant la procédure SAS NLIN.

C) Résultats

Les caractéristiques de cette population sont présentées dans la **Tableau 25**. Les participants étaient des hommes et des femmes de type Caucasiens et d'âge moyen. La concentration plasmatique moyenne (\pm SD) en PTH était de 26,2 \pm 9,3ng/l.

Tableau 25 Caractéristiques de la population d'étude, N=1824, cohorte SU.VI.MAX, France, 1994-2007

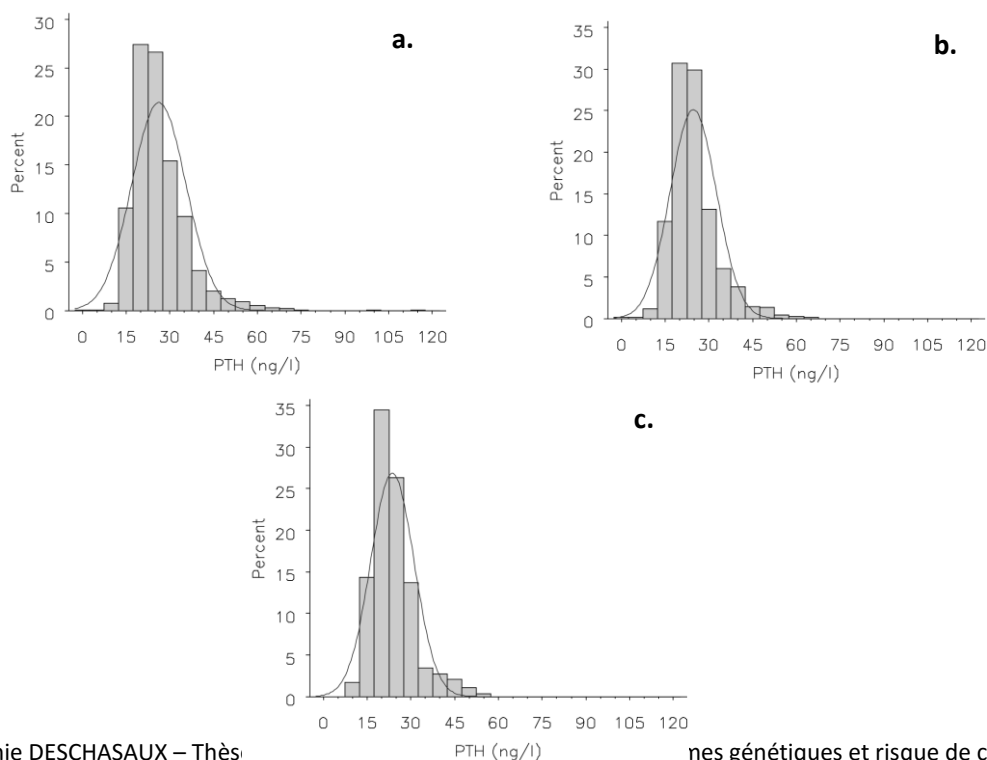
	N	%	Moy	SD
Sexe				
Homme	833	45,7		
Femme	991	54,3		

Age			
35-45 ans	287	15,7	
45-49 ans	481	26,4	
50-54 ans	463	25,4	
55-65 ans	593	32,5	
Indice de Masse Corporelle (IMC, kg/m ²)			
Sous-poids, <18,5	37	2,0	
Poids normal, ≥18,5-<25	1100	60,3	
Surpoids, ≥25-<30	569	31,2	
Obésité, ≥30	118	6,5	
Nombre d'enregistrements de 24h		10,1	3,1
Apports alimentaires en calcium (mg/jour)		951,1	323,8
Période de prélèvement			
Octobre-Novembre	303	16,6	
Décembre-Janvier	586	32,1	
Février-Mars	731	40,1	
Avril-Mai	204	11,2	
Concentration plasmatique en PTH (ng/l)		26,2	9,3
Concentration plasmatique en 25(OH)D (ng/ml)		20,0	10,3

25OHD, 25-hydroxyvitamine D ; PTH, hormone parathyroïdienne

Comme observé sur la **Figure 11**, la distribution des concentrations en PTH était légèrement décalée sur la droite pour l'échantillon au global mais ne l'était plus chez les individus présentant un statut suffisant en vitamine D. Neuf individus présentaient une concentration ≥ 65 ng/l (limite supérieure des valeurs normales selon le fabricant du kit). Les proportions d'individus présentant des concentrations en 25(OH)D ≤ 20 ng/ml ou ≤ 30 ng/ml étaient respectivement de 57,8% et 83,9%.

Figure 11 Distribution de la concentration plasmatique en PTH (a) dans l'échantillon total (N=1824), (b) chez les individus avec une concentration plasmatique en 25(OH)D ≥ 20 ng/ml (N=770) et (c) chez les sujets avec une concentration plasmatique en 25(OH)D ≥ 30 ng/ml (N=293), cohorte SU.VI.MAX, France, 1994-2007



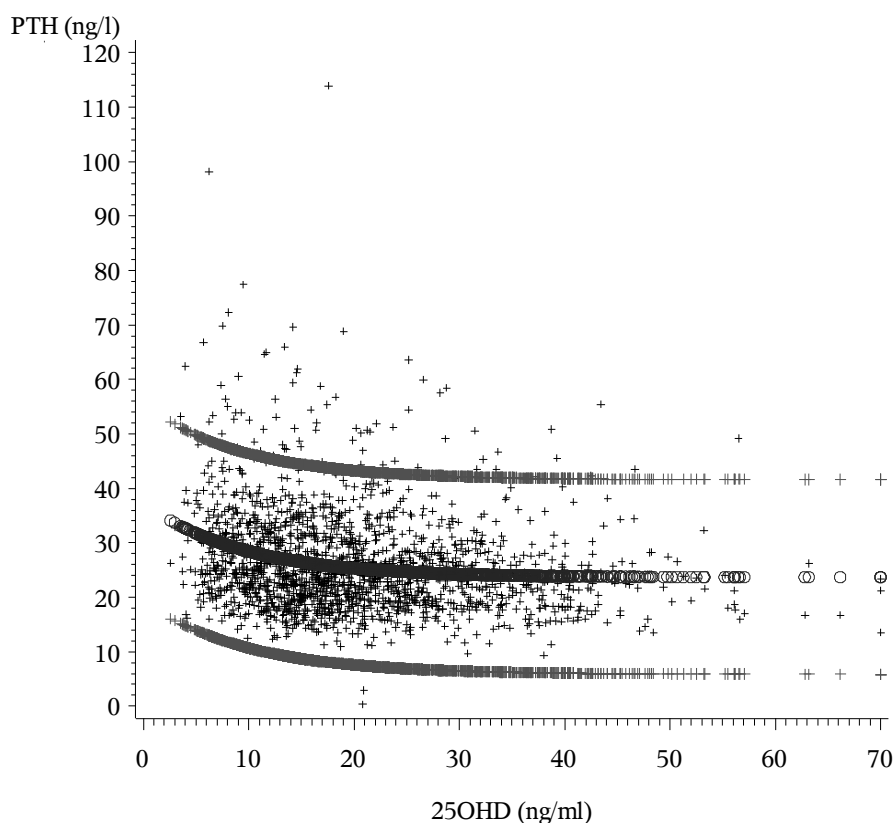
La **Tableau 26** présente les concentrations en PTH en fonction des concentrations en 25(OH)D.

Tableau 26 Concentration plasmatique moyenne en PTH en fonction de la concentration en 25(OH)D, N=1824, cohorte SU.VI.MAX, France, 1994-2007

25OHD (ng/ml)	N	Concentration en PTH (Moy±SD)
<10	270	30,3±11,4
≥10 - <20	783	26,4±9,3
≥20 - <30	478	25,3±8,2
≥30 - <40	209	23,9±7,3
≥40	84	23,1±7,8

Le coefficient de corrélation de Pearson entre les concentrations plasmatiques en 25(OH)D et PTH était de -0,20 (P<0,0001). La relation entre ces concentrations n'était pas linéaire et pouvait être modélisée par l'équation suivante : $PTH = 23,7 + 13,7 \exp^{-0,1 \times 25(OH)D}$ (voir **Figure 12**). Cette équation a permis de suggérer que la concentration en PTH atteignait un plateau à environ 24ng/l et que ce plateau était atteint pour une concentration en 25(OH)D d'environ 30ng/ml. Nous avons également observé que lorsque la concentration en 25(OH)D devenait inférieure à 30ng/ml, la concentration plasmatique en PTH commençait à augmenter.

Figure 12 Concentration plasmatique en PTH en fonction de la concentration plasmatique en 25(OH)D, N=1824, cohorte SU.VI.MAX, France, 1994-2007



La **Tableau 27** présente les percentiles extrêmes (2,5 et 97,5^{èmes}) de la distribution des concentrations en PTH dans l'échantillon global et en fonction du statut en vitamine D, du sexe, de

l'âge, du statut pondéral, et de l'apport alimentaire en calcium. Parmi les individus avec une concentration en 25(OH)D ≥ 20 ng/ml, le 97,5^{ème} percentile des concentrations en PTH était de 45,5ng/l et il était similaire (45,3ng/l) chez les individus avec une concentration en 25(OH)D ≥ 30 ng/ml. Cette valeur était inférieure de 30% à la limite supérieure des valeurs normales telle que fournie par le fabricant du kit (65ng/l) et était légèrement inférieure à la valeur du 97,5^{ème} percentile observé dans l'échantillon total sans prendre en compte le statut en vitamine D. En utilisant 45,5ng/l comme valeur limite supérieure pour les valeurs de PTH, 4,8% des individus avec une concentration plasmatique en 25(OH)D ≤ 20 ng/ml présentaient une concentration plasmatique élevée en PTH, reflétant une hyperparathyroïdie secondaire. Ceci pourrait être manqué lorsque les valeurs de référence de PTH sont obtenues sur le groupe en entier, comme ce qui est habituellement fait.

Parmi les individus avec une concentration en 25(OH)D ≥ 20 ng/ml, la valeur du 97,5^{ème} percentile pour les concentrations en PTH était modifiée par le statut pondéral et les apports alimentaires en calcium. Cependant, la différence en fonction des apports alimentaires en calcium n'était plus observée chez les individus avec un statut élevé en vitamine D alors que la différence en fonction du statut pondéral persistait.

Tableau 27 Percentiles extrêmes de la concentration plasmatique en PTH en fonction du statut en vitamine D, du sexe, de l'âge, du statut pondéral et des apports en calcium, N=1824, cohorte SU.VI.MAX, France, 1994-2007

Concentration plasmatique en PTH	Echantillon total					Sujets avec une concentration plasmatique en 25(OH)D ≥20ng/ml					Sujets avec une concentration plasmatique en 25(OH)D ≥30ng/ml				
	N	Moy	SD	Percentiles extrêmes		N	Moy	SD	Percentiles extrêmes		N	Moy	SD	Percentiles extrêmes	
				2,5 ^{ème}	97,5 ^{ème}				2,5 ^{ème}	97,5 ^{ème}				2,5 ^{ème}	97,5 ^{ème}
Echantillon total	1824	26,2	9,3	14,3	50,8	771	24,7	7,9	13,5	45,5	293	23,7	7,4	13,3	45,3
Sexe															
Hommes	833	27,1	9,6	14,6	53,0	412	25,3	8,0	13,5	49,1	167	24,3	7,3	13,3	45,3
Femmes	991	25,5	9,0	14,1	48,5	359	23,9	7,9	12,6	44,3	126	22,8	7,5	11,7	46,7
Age															
35-45 ans	287	25,0	8,9	14,3	50,1	111	23,9	8,6	13,1	50,1	43	24,4	8,3	14,7	49,1
45-49 ans	481	26,0	9,9	13,7	50,6	190	24,9	8,3	11,6	45,3	63	24,5	8,2	9,4	45,4
50-54 ans	463	26,2	9,0	14,4	49,1	193	23,7	6,8	13,1	44,3	66	21,9	5,7	9,7	38,1
55-65 ans	593	27,1	9,2	14,6	53,9	277	25,5	8,1	14,0	50,8	121	24,3	7,4	13,8	45,5
Statut pondéral															
IMC <25kg/m ²	1137	25,6	9,1	13,9	48,5	510	23,8	7,2	13,3	43,5	199	23,3	7,1	13,3	43,5
IMC ≥25kg/m ² (surpoids)	687	27,9	9,6	15,2	53,9	261	26,4	9,0	13,5	51,9	94	24,5	8,1	11,3	50,8
Apports en calcium ¹															
<1,2g/jour	1467	26,4	9,4	14,5	51,0	619	25,0	8,1	14,4	49,1	235	23,8	7,6	13,5	45,5
≥1,2g/jour	353	25,5	8,7	11,5	48,7	152	23,3	7,1	9,7	39,6	58	23,1	6,6	9,7	49,1

¹ 4 sujets ont été exclus car ils prenaient des médicaments contenant du calcium.

25OHD, 25-hydroxyvitamine D ; PTH, hormone parathyroïdienne ; IMC, indice de masse corporelle ; Moy, moyenne ; SD, écart-type.

D) Discussion et mise en regard de la littérature

Dans cette étude conduite sur un large échantillon d'adultes français de type Caucasiens, nous avons investigué les valeurs de concentration plasmatique en PTH en fonction non seulement du statut en vitamine D mais aussi de l'âge, du sexe, du statut pondéral et des apports alimentaires en calcium, respectant ainsi les recommandations pour établir les valeurs de référence pour les concentrations en PTH proposées par un panel d'expert (recommandations portant sur le diagnostic d'une PHPT asymptomatique) [110].

La première étape pour établir des valeurs de référence pour un biomarqueur donné est de recruter une population de référence en bonne santé. Dans le cas de la PTH, toute situation pouvant induire une augmentation ou une diminution de la PTH devient un critère d'exclusion. Certaines de ces conditions, comme l'utilisation d'un traitement ou la présence de symptômes liés à une maladie sont facilement détectables au moment de l'inclusion. En revanche, les autres conditions étant principalement asymptomatiques, elles seront ignorées si elles ne sont pas précisément recherchées. Parmi ces conditions, la carence et/ou l'insuffisance en vitamine D sont courantes dans la population française, comme confirmé par nos résultats. Cependant, bien que le fait que la concentration en PTH augmente lors d'une insuffisance en vitamine D soit bien documenté [107], la concentration en 25(OH)D en-dessous de laquelle cette augmentation commence à être observée est très différente selon les études. Ainsi, cette concentration seuil en 25(OH)D variait entre 10 et 49ng/ml dans une revue systématique [248]. Dans notre étude, nous avons observé une augmentation de la concentration plasmatique en PTH lorsque la concentration plasmatique en 25(OH)D était en-dessous d'un seuil de 30ng/ml, ce qui est cohérent avec les résultats d'une précédente étude menée dans un échantillon de 1569 participants issus de la cohorte SU.VI.MAX (échantillon indépendant de celui utilisé ici), dans laquelle la concentration en PTH atteignait un plateau pour une concentration en 25(OH)D autour de 31ng/ml, peu importe l'âge ou le sexe [101]. Bien qu'une partie des différences entre les seuils PTH-25(OH)D observée peut être liée à un manque de standardisation et à une variabilité opérationnelle entre les différents kits de dosage pour la 25(OH)D [249], il est également important de noter que les kits de dosages utilisés pour mesurer les concentrations en PTH et 25(OH)D dans cette étude étaient différents de ceux utilisés dans la précédente étude menée dans la cohorte SU.VI.MAX [101].

Nous avons observé que la valeur du 97,5^{ème} percentile de la distribution de la concentration plasmatique en PTH dans notre population mesurée par le kit Roche Cobas était de 50,8ng/l, ce qui est 22% inférieur à la limite supérieure des valeurs normales de 65ng/l proposée par le fabricant du kit. Cette valeur diminuait pour atteindre 45,5ng/l (30% inférieur à 65ng/l) chez des sujets ne présentant pas d'insuffisance en vitamine D. Ces résultats sont cohérents avec différentes études menées sur de plus petits échantillons conduites précédemment [104, 105]. Par exemple, en excluant les sujets avec des concentrations basses en 25(OH)D d'un échantillon de 280 adultes de type Caucasiens âgés de 60 à 79 ans et en bonne santé, la limite supérieure de l'intervalle de référence pour la PTH diminuait de 29% et 23% respectivement avec les kits Nichols Allegro et Scantibodies CAP [105]. Plus récemment, la valeur du 97,5^{ème} percentile des concentrations sériques en PTH mesurée avec le même kit que dans la présente étude était de 50ng/l dans un échantillon de 240 adultes en bonne santé présentant des concentrations en 25(OH)D \geq 30ng/ml et un taux de filtration glomérulaire \geq 60ml/min pour 1,73m² [104]. Bien que proche de la valeur observée dans la présente étude, cette valeur du 97,5^{ème} percentile est néanmoins légèrement supérieure, ce qui peut être expliqué par l'utilisation du sérum [104] alors que le plasma était utilisé ici. En effet, avec le kit de dosage de la PTH utilisé dans ces 2 études, les

valeurs obtenues avec du plasma sont légèrement inférieures à celles obtenues avec du sérum [250].

D'autres auteurs ont récemment publié des valeurs de référence pour la PTH en utilisant ce même kit de dosage dans des populations ne présentant pas d'insuffisance en vitamine D et ont obtenu des résultats contrastés [251, 252]. La'alu et Roberts [251] ont observé que la limite supérieure de référence pour la concentration sérique en PTH était de 73,5ng/l dans un échantillon de 252 sujets apparemment en bonne santé et de 60,3ng/l dans un échantillon de 133 sujets avec une concentration en 25(OH)D \geq 30ng/ml. Rejnmark et al. [252] ont quant à eux observé que la limite supérieure pour la concentration plasmatique en PTH était de 81ng/l dans un échantillon de 2316 femmes apparemment en bonne santé âgées de 17 à 84 ans. Cette valeur diminuait légèrement pour atteindre 72,6ng/l et 67ng/l chez les femmes présentant une concentration en 25(OH)D respectivement \geq 32ng/ml (N=525) et \geq 40ng/ml (N=182). Aucune explication simple ne peut être avancée pour expliquer les différences de résultats observées entre notre étude et ces 2 études, en particulier l'étude bien menée de Rejnmark et al. En effet, le fait de n'avoir inclus que des femmes dans leur étude ne devrait pas induire de telles différences puisqu'aucune différence n'a été observée entre hommes et femmes dans notre cohorte [104]. De manière similaire, la plus grande fourchette d'âge incluse dans l'étude de Rejnmark et al. ne permet pas non plus d'expliquer les différences observées car l'âge n'était pas un facteur déterminant de la concentration en PTH dans notre étude. Cependant, ceci demande de plus amples investigations étant donné que l'âge était (faiblement) corrélé à la concentration en PTH dans leur étude. La probabilité que les différences observées soient liées à des différences inter-laboratoires est également basse car le kit utilisé présente une variabilité inter-laboratoire relativement faible (9,7% pour une concentration en PTH de 53ng/l et 7,3% pour une concentration en PTH de 20ng/l). L'explication la plus probable à ces différences de résultats peut être la manière dont ont été obtenus les prélèvements sanguins (le matin après une nuit à jeun dans notre étude et entre 8h00 et 13h00 non à jeun dans l'étude de Rejnmark et al.). En effet, les variations circadiennes de la concentration en PTH sont bien documentées, avec des concentrations en PTH plus élevées en fin de matinée/début d'après-midi comparées au début de matinée [253-255]. Contrairement à notre étude dans laquelle la distribution des concentrations en PTH n'était pas décalée pour les individus ne présentant pas d'insuffisance en vitamine D, cette même distribution était décalée vers la droite dans l'étude de Rejnmark et al. Il est ainsi possible qu'un sous-échantillon de leur population dont le prélèvement sanguin aurait été réalisé tardivement ait pu influencer la distribution des concentrations en PTH et soit donc responsable de la limite supérieure plus élevée pour la PTH. Il est toutefois intéressant de noter que, dans l'étude de Rejnmark et al., la concentration en 25(OH)D en-dessous de laquelle la concentration en PTH commençait à augmenter était de 33ng/ml, ce qui est cohérent avec la valeur observée dans notre étude. Dans l'étude de La'alu et Roberts [251], la limite supérieure pour la PTH chez des sujets présentant une concentration en 25(OH)D \geq 30ng/ml se situait entre la valeur obtenue dans notre étude et la valeur obtenue dans l'étude de Rejnmark et al. Dans cette étude, la concentration en PTH a été mesurée à partir de sérum (concentrations observées légèrement supérieures comparées à celles mesurées dans du plasma avec le kit Roche Cobas) et aucune information n'était fournie sur les heures de prélèvement sanguin ou l'état à jeun ou non des sujets au moment du prélèvement. Par ailleurs, l'intervalle de confiance pour la limite supérieure était large, ce qui implique que leurs résultats sont compatibles avec notre étude et celle de Rejnmark et al.

D'autre part, outre la prise en compte du statut en vitamine D, nous avons également stratifié nos analyses sur d'autres modificateurs potentiels de la concentration en PTH. Comme discuté

précédemment, le sexe et l'âge n'avaient pas d'influence sur les valeurs de PTH. Cependant, cette étude n'incluait que des sujets d'âge moyen. Ainsi l'intervalle d'âge considéré peut avoir été trop restreint pour permettre l'observation de différences. Nos résultats suggèrent que la définition des valeurs limites pour la concentration en PTH devrait intégrer le statut pondéral et éventuellement les apports en calcium. Chez les sujets en surpoids ne présentant pas d'insuffisance en vitamine D, la limite supérieure pour la PTH était supérieure à celle observée chez des sujets ne présentant pas de surpoids et chez des individus avec une concentration en 25(OH)D ≥ 20 ng/ml, la valeur du 97,5^{ème} percentile pour la concentration en PTH était plus élevée chez ceux avec de faibles apports en calcium (différence toutefois non-observée chez ceux avec une concentration en 25(OH)D ≥ 30 ng/ml).

D'un point de vue clinique, la pertinence de diminuer la limite supérieure de référence pour la PTH peut être débattue. En effet, le fait d'abaisser cette limite pourrait entraîner la détection d'un plus grand nombre de sujets avec une concentration en PTH potentiellement élevée. Il faudra alors évaluer s'il existe des explications plausibles à cette élévation de la concentration en PTH chez ces patients, ce qui conduira à de plus amples explorations. En 2003 [256], une limite supérieure à 46ng/l a été validée chez 708 patients bien décrits présentant une ostéopénie (comparée à la valeur de 65ng/l proposée par le fabricant) mais un statut suffisant en vitamine D (kit Nichols Allegro) [105]. L'utilisation de ces valeurs de référence conduisait à augmenter la détection de concentrations en PTH élevées chez des patients normocalcémiques ayant des raisons pour une potentielle sécrétion anormale de PTH (meilleure sensibilité). Seuls 3% des patients pour lesquels la concentration en PTH était ≥ 46 ng/l ne présentaient aucune raison pour une sécrétion élevée de PTH (pas de perte de spécificité). Le gain de sensibilité était important puisque parmi 348 patients présentant des causes potentielles d'élévation de la concentration en PTH, 46 (13,2%) avaient une concentration en PTH ≥ 65 ng/l alors que 126 (36,2%) présentaient une concentration en PTH ≥ 46 ng/l. De façon similaire, dans une étude précédente investiguant les effets d'une parathyroïdectomie sur la densité minérale osseuse, plus de la moitié des 39 patients avec une PHPT normocalcémique confirmée chirurgicalement et 40% de ceux avec une forme hypercalcémique et asymptomatique de PHPT présentaient une concentration en PTH inférieure à la limite supérieure de 65ng/l proposée pour le kit utilisé (même kit que dans notre étude) [257]. Tous les prélèvements sanguins utilisés dans ces études [104-106, 256, 257] ont été réalisés après une nuit de jeûne.

Il est important de noter qu'un seul kit a été utilisé ici pour mesurer la concentration en PTH dans des échantillons de plasma obtenus en début de matinée après une nuit de jeûne. Étant donnée l'importante variabilité existante entre les différents kits de dosage [104, 250, 258], ce type d'étude devrait également être conduit pour d'autres kits. De plus, étant donné que les concentrations en PTH mesurées dans du sérum ou du plasma sont généralement différentes (certains kits donnant des concentrations supérieures avec du plasma et certains kits avec du sérum [250, 259]) et étant donné que la concentration en PTH est influencée par le timing du prélèvement sanguin et le statut à jeun ou des sujets, un consensus clair (panel d'experts) est nécessaire concernant les conditions pré-analytiques requises (plasma ou sérum, à jeun ou non) pour le dosage de la PTH.

Pour conclure, étant donné que de faibles augmentations de la concentration en PTH pourraient avoir des effets délétères au niveau osseux mais aussi non-osseux, une détection correcte des valeurs anormales pour la PTH présente un enjeu clinique majeur.

Ce travail donne de nouvelles pistes pour fixer les valeurs de références pour la PTH dans une population d'adultes français d'âge moyen et de type Caucasien avec un statut suffisant en vitamine D, en prenant en compte d'autres modificateurs potentiels de la concentration en PTH comme recommandé [110]. Nos résultats suggèrent que la limite supérieure pour la concentration plasmatique en PTH mesurée avec le kit Roche Cobas chez des sujets à jeun devrait être d'environ 45ng/l au lieu de 65ng/l, valeur limite de référence actuellement proposée par le fabricant. Ils suggèrent également que les valeurs de référence pour la PTH pourraient différer selon le statut pondéral et les apports en calcium.

Ces résultats devraient ainsi contribuer à l'amélioration du diagnostic de PHPT et SHPT et des indications thérapeutiques en résultant. De plus amples études sont nécessaires pour évaluer la limite supérieure de référence pour la PTH dans des populations de patients (ex. patients avec une PHPT).

Partie 2 – Vitamine D et risque de cancer (aspects étiologiques)

Dans cette partie, sont présentés les travaux étiologiques réalisés dans le cadre de cette thèse : étude des associations entre la vitamine D (statut et polymorphismes génétiques) et le risque de cancer du sein, de cancer de la prostate et de cancers liés au tabac, en prenant en compte d'éventuelles modifications par des facteurs individuels.

Les expositions suivantes ont été systématiquement testées pour ces 3 études : concentration plasmatique en 25(OH)D, concentration plasmatique en PTH, apports alimentaires en vitamine D et polymorphismes génétiques (10 SNPs : *VDR* rs1544410, *VDR* rs2228570/10735810, *VDR* rs11568820, *CYP24A1* rs4809958, *GC* rs4588, *GC* rs7041, *RXR* rs7861779, *RXR* rs12004589, *CaSR* rs1801725 et *CaSR* rs4678174). Toutefois, afin de ne pas surcharger le manuscrit et les articles, seuls les résultats les plus pertinents sont présentés ici. Sauf mention contraire, les autres résultats étaient non significatifs.

I. Vitamine D et risque de cancer du sein

Deschasaux M, Souberbielle JC, Latino-Martel P, Sutton A, Charnaux N, Druesne-Pecollo N, Galan P, Hercberg S, Le Clerc S, Kesse-Guyot E, Ezzedine K, Touvier M. Weight Status and Alcohol Intake Modify the Association between Vitamin D and Breast Cancer Risk. *J Nutr.* 2016 Mar;**146(3):576-85**.

L'article issu de ces résultats est présenté en **Annexe 5**.

A) Population d'étude

Dans la cohorte SU.VI.MAX, 277 cas de cancer du sein ont été diagnostiqués au cours du suivi (1994-2007). Parmi ceux-ci, les cas diagnostiqués au cours des deux premières années de suivi (N=44) ont été exclus afin d'éviter tout biais préclinique (i.e. causalité inverse : influence d'un état précancéreux sur la concentration en 25(OH)D et sur d'autres facteurs alimentaires ou de mode de vie). 233 cas de cancer du sein ont donc été inclus dans cette étude et appariés à 466 témoins. L'âge moyen au diagnostic était de 56,3 ans et la durée moyenne entre l'inclusion et le diagnostic était de 7,0 ans.

B) Analyses statistiques

Les associations entre le risque de cancer du sein, la concentration plasmatique en 25(OH)D et les SNPs ont été étudiées à l'aide de modèles de régression logistique conditionnelle multivariés. Les cas et les témoins étaient appariés sur l'âge à l'inclusion, le groupe d'intervention de l'essai SU.VI.MAX, la saison de prélèvement, le statut ménopausique, et l'utilisation de THM. Les modèles étaient en sus ajustés sur les niveaux d'éducation et d'activité physique, la consommation d'alcool, le tabagisme, la taille, l'IMC, les antécédents familiaux de cancer du sein et le nombre d'enfants biologiques.

Les modèles utilisés dans les analyses SNPs étaient également ajustés sur la concentration plasmatique en 25(OH)D afin d'étudier l'effet des polymorphismes génétiques à statut en vitamine D équivalent.

Des ajustements supplémentaires sur l'apport énergétique sans alcool (continu, kcal/jour), l'apport en lipides (continu, g/jour) et l'utilisation de contraceptifs oraux à l'inclusion (oui/non) ont également été testés.

La concentration plasmatique en 25(OH)D a été codée en quartiles et selon les seuils de carence (<10ng/ml) et d'insuffisance (<20ng/ml). Les SNPs ont été étudiés selon 3 modalités : codominant, dominant et récessif. De plus, afin de pouvoir comparer nos résultats avec ceux d'études précédentes [123, 143], nous avons combiné les deux polymorphismes du gène GC pour correspondre aux formes les plus courantes de la VDBP [260]: Gc1s ou Gc1 (rs4588 G et rs7041 C), Gc1f ou Gc1 (rs4588 G et rs7041 A) et Gc2 (rs4588 T et rs7041 A).

Des interactions deux à deux ont été testées entre la concentration plasmatique en 25(OH)D, les 4 SNPs étudiés, l'IMC (seuil à la médiane), la consommation d'alcool (seuil à la médiane), l'apport en calcium (seuil à la médiane) et la prise d'un THM à l'inclusion (oui/non). Des analyses stratifiées ont ensuite été conduites : l'association entre la concentration plasmatique en 25(OH)D et le risque de cancer du sein a été étudiée séparément dans les deux strates d'IMC et dans les deux strates de consommations d'alcool. Pour chaque SNP, des analyses stratifiées ont également été conduites selon l'IMC, la consommation d'alcool et la concentration plasmatique en 25(OH)D. Des seuils à la médiane ont été utilisés afin de maximiser la puissance dans chaque strate. Les seuils de concentration en 25(OH)D correspondant aux quartiles ont été déterminés sur la population entière puis conservés dans les analyses stratifiées.

Dans les analyses stratifiées sur l'IMC et la consommation d'alcool et dans toutes les analyses génétiques, des modèles de régression logistique non conditionnelle ajustés sur les facteurs d'appariement et les autres facteurs de confusion potentiels ont été utilisés afin d'éviter une perte artificielle de sujets (ex. quand les cas et leurs témoins respectifs n'appartiennent pas à la même strate) et de maintenir la puissance statistique, comme fait précédemment [166].

Des analyses supplémentaires ont également été conduites en fonction du statut ménopausique au moment du diagnostic, du caractère invasif/*in situ* du cancer et de la présence ou non de récepteurs aux estrogènes (ER+/ER-). Le statut ménopausique au moment du diagnostic a été déterminé en comparant l'âge au diagnostic avec l'âge à la ménopause déclaré par les participantes.

L'ensemble des P-values (P-interaction et P-trend) obtenues dans les analyses ont été ajustées pour prendre en compte les tests multiples (SAS PROC MULTTEST [261]) en contrôlant le taux de fausses découvertes (False Discovery Rate [262]).

C) Résultats

La **Tableau 28** résume l'ensemble des caractéristiques des cas et des témoins. Comparés aux témoins, les cas de cancer du sein étaient plus susceptibles de fumer et d'avoir des antécédents familiaux de cancer du sein.

Tableau 28 Caractéristiques à l'inclusion des cas de cancer du sein et de leurs témoins¹, cohorte SU.VI.MAX, France (1994-2007)

	Cas de cancer du sein (N=233)	Témoins (N=466)	p ²
Age (années)	49,3 ± 6,2	49,1 ± 6,1	0,8
Indice de Masse Corporelle (IMC, kg/m ²)	23,2 ± 4,0	23,5 ± 3,8	0,3
Distribution de l'IMC			0,7
<18,5kg/m ² (sous-poids)	11 (4,7)	14 (3,0)	

≥18,5 - <25kg/m ² (poids normal)	164 (70,4)	328 (70,4)	
≥25 - <30kg/m ² (surpoids)	41 (17,6)	91 (19,5)	
≥30kg/m ² (obésité)	17 (7,3)	33 (7,1)	
Taille (cm)	162,7 ± 6,4	162,0 ± 6,3	0,2
Groupe d'intervention de l'essai SU.VI.MAX			1
Antioxydants	119 (51,1)	238 (51,1)	
Placebo	114 (48,9)	228 (48,9)	
Statut tabagique			0,001
Non fumeuse	133 (57,1)	290 (62,2)	
Ex-fumeuse	50 (21,5)	124 (26,6)	
Fumeuse	50 (21,5)	52 (11,2)	
Activité physique			0,2
Irrégulière	68 (29,2)	106 (22,8)	
<1h/jour d'équivalent marche	81 (34,8)	173 (37,1)	
≥1h/jour d'équivalent marche	84 (36,1)	187 (40,1)	
Niveau d'étude			0,8
Primaire	48 (20,6)	89 (19,1)	
Secondaire	88 (37,8)	187 (40,1)	
Supérieur	97 (41,6)	190 (40,8)	
Nombre d'enfants biologiques	1,9 ± 1,2	2,0 ± 1,1	0,3
Prise d'un THM (oui)	91 (39,1)	182 (39,1)	1
Statut ménopausique à l'inclusion			1
Non ménopausée	139 (59,7)	278 (59,7)	
Ménopausée	94 (40,3)	188 (40,3)	
Antécédents familiaux de cancer du sein (oui) ³	34 (14,6)	45 (9,7)	0,05
Consommation d'alcool (g/jour)	11,0 ± 11,6	11,2 ± 13,9	0,8
Distribution de la consommation d'alcool			0,02
<10g/jour	125 (53,6)	286 (61,4)	
≥10 - <20g/jour	69 (29,6)	93 (20,0)	
≥20g/jour	39 (16,7)	87 (18,7)	
Concentration en 25(OH)D	18,9 ± 11,3	18,8 ± 10,2	0,9
≥10ng/ml	190 (81,6)	385 (82,6)	0,7
≥20ng/ml	88 (37,8)	170 (36,5)	0,7
Période de prélèvement			0,4
Octobre-Novembre	36 (15,5)	67 (14,4)	
Décembre-Janvier	62 (26,6)	152 (32,6)	
Février-Mars	105 (45,1)	196 (42,1)	
Avril-Mai	30 (12,9)	51 (10,9)	
VDR Bsm1 rs1544410 ^{4,5}			0,3
CC (WT, bb)	89 (40,6)	157 (36,3)	
CT (HT, bB)	96 (43,8)	189 (43,8)	
TT (MT, BB)	34 (15,5)	86 (19,9)	
VDR FokI rs2228570 ^{4,5}			0,7
GG (WT, FF)	78 (35,0)	174 (37,9)	
GA (HT, fF)	102 (45,7)	204 (44,4)	
AA (MT, ff)	43 (19,3)	81 (17,7)	
GC rs4588 ⁴			0,2
GG (WT)	101 (45,9)	227 (50,4)	
GT (HT)	89 (40,5)	181 (40,2)	
TT (MT)	30 (13,6)	42 (9,3)	
GC rs7041 ⁴			0,8
AA (WT)	46 (20,7)	91 (20,1)	
AC (HT)	110 (49,6)	216 (47,8)	
CC (MT)	66 (29,7)	145 (32,1)	

¹ Moyennes ± SDs ou N (%)

² P pour la comparaison des caractéristiques entre cas de cancers du sein et témoins, obtenus à partir de tests du χ^2 (variables catégorielles) ou de tests de Fisher (analyses de la variance, variables continues).

³ Parmi les proches au premier degré.

⁴ Données manquantes: 48 (rs1544410), 17 (rs2228570), 29 (rs4588), 25 (rs7041).

⁵ Equivalence de nomenclature avec des études précédents pour *VDR* BsmI et FokI: les génotypes B et F correspondent à l'absence des sites de restriction BsmI et FokI (dans notre cas, correspond aux allèles T et G respectivement), et les génotypes b et f correspondent à la présence des sites de restriction BsmI et FokI (dans notre cas, correspond aux allèles C et A respectivement).

IMC Indice de Masse Corporelle ; WT homozygote sauvage, HT hétérozygote; MT homozygote muté ; SD, écart-type; SU.VI.MAX, Supplémentation en Vitamines et Minéraux Antioxydants ; THM, traitement hormonal de la ménopause.

La **Tableau 29** présente les associations entre concentration plasmatique en 25(OH)D et le risque de cancer du sein au global et stratifiées selon l'IMC et la consommation d'alcool (seuils aux médianes : 22,4kg/m² et 7,1g/jour respectivement). Au global, aucune association n'a été observée entre la concentration plasmatique en 25(OH)D et le risque de cancer du sein ($P > 0,6$). Aucune interaction n'a été détectée entre la concentration plasmatique en 25(OH)D et l'utilisation de THM à l'inclusion (P -interaction $> 0,5$) ou les apports en calcium (P -interaction $> 0,2$). En revanche, les associations étaient modifiées par l'IMC (P -interaction = 0,002 pour les différents codages) et la consommation d'alcool (≥ 10 vs. < 10 ng/ml : P -interaction = 0,03).

Chez les femmes avec un IMC $<$ médiane, le statut en vitamine D était associé avec une diminution de risque de cancer du sein (P -trend : 0,01 (Q4 vs. Q1), 0,004 (≥ 10 vs. < 10 ng/ml) et 0,06 (≥ 20 vs. < 20 ng/ml)) alors que chez les femmes avec un IMC \geq médiane, le statut en vitamine D était associé à une augmentation de risque de cancer du sein (P -trend : 0,02 (Q4 vs. Q1), 0,02 (≥ 10 vs. < 10 ng/ml) et 0,003 (≥ 20 vs. < 20 ng/ml)). Des résultats similaires ont été observés lorsque le seuil d'IMC à 25kg/m² (surpoids) a été retenu au lieu du seuil à la médiane (P -interaction = 0,02 (≥ 10 vs. < 10 ng/ml) et 0,0003 (≥ 20 vs. < 20 ng/ml)), avec une puissance statistique limitée dans le groupe de femmes en surpoids.

Une concentration plasmatique en 25(OH)D ≥ 10 ng/ml était associée à une diminution de risque de cancer du sein chez les femmes ayant une consommation d'alcool \geq médiane ($P = 0,03$) alors qu'aucune association n'était observée chez les femmes avec une consommation d'alcool $<$ médiane.

La **Tableau 30** montre les associations entre les 4 SNPs étudiés et le risque de cancer du sein au global et stratifiées selon la concentration plasmatique en 25(OH)D, l'IMC et la consommation d'alcool (seuils aux médianes : 16,6ng/ml, 22,4kg/m² et 7,1g/jour respectivement).

Le génotype *GC* rs4588 TT était associé à une augmentation de risque de cancer du sein (modèle récessif, $P = 0,03$), en particulier chez les femmes avec un IMC $<$ médiane (modèle récessif, $P = 0,004$, P -interaction = 0,05). Une association directe a également été observée avec le génotype combiné Gc2-Gc2 comparé aux deux génotypes combinés les plus communs Gc1s-1s (OR = 1,98 (1,04-3,75)) et Gc1-Gc1 (OR = 2,02 (1,10-3,70)) [données non tabulées].

Le génotype *VDR* BsmI TT était associé à une diminution de risque de cancer du sein chez les femmes avec une concentration plasmatique en 25(OH)D \geq médiane (modèle récessif, $P = 0,02$, P -interaction = 0,03) et chez les femmes avec une consommation d'alcool \geq médiane (modèle récessif, $P = 0,007$, P -interaction = 0,01).

Tous les résultats portant sur les SNPs étaient similaires avec ou sans ajustement sur la concentration plasmatique en 25(OH)D (données non présentées).

L'ensemble des résultats ci-dessus étaient similaires avec un ajustement sur des périodes de prélèvement sanguin de 2 mois, sur des variables alimentaires (énergie, lipides, 190 cas/380 témoins) ou sur l'utilisation d'une contraception orale à l'inclusion (193 cas/359 témoins)

[données non présentées]. Des tendances similaires ont été également observées lorsque les analyses étaient restreintes aux femmes ménopausées (160 cas/320 témoins), aux cas de cancer du sein invasif (206 cas/412 témoins) ou aux cas de cancer du sein de type ER+ (130 cas/260 témoins) [données non présentées]. La puissance statistique était trop limitée pour réaliser des analyses restreintes aux femmes non-ménopausées, aux cas de cancer du sein de type ER- ou aux cas de cancers du sein *in situ*. Les résultats des analyses stratifiées et des analyses génétiques étaient similaires avec l'utilisation de modèles de régression logistique conditionnelle [données non présentées].

Les associations entre la concentration plasmatique en 25(OH)D et le risque de cancer du sein (au global et stratifiées par l'IMC et la consommation d'alcool) étaient globalement stables après avoir réalisé un ajustement sur les tests multiples. Cependant, toutes les analyses exploratoires impliquant les SNPs (au global et stratifiées par l'IMC et la consommation d'alcool) n'étaient plus significatives.

Tableau 29 Association entre la concentration plasmatique en 25-hydroxyvitamine D et le risque de cancer du sein, régression logistique multivariée¹ – Interactions avec l’IMC et la consommation d’alcool et analyses stratifiées, cohorte SU.VI.MAX, France (1994-2007)

25(OH)D	Global			25(OH)D x IMC						25(OH)D x Consommation d’alcool							
	OR	IC 95%	P-trend	IMC <22,4kg/m ²			IMC ≥22,4kg/m ²			Alcool <7,1g/jour			Alcool ≥7,1g/jour				
				OR	IC 95%	P-trend	OR	IC 95%	P-trend	P-interaction	OR	IC 95%	P-trend	OR	IC 95%	P-trend	P-interaction
Quartiles²			0,7			0,01			0,02	0,002			0,4			0,2	0,1
cas/témoins	58/117			35/34			23/83				27/80			31/37			
Q1	1,00			1,00			1,00				1,00			1,00			
cas/témoins	63/111			33/49			30/62				27/50			36/61			
Q2	1,18	0,73-1,91		0,62	0,31-1,22		2,24	1,11-4,52			1,69	0,85-3,34		0,73	0,38-1,41		
cas/témoins	55/120			28/64			27/56				31/52			24/68			
Q3	0,88	0,53-1,47		0,40	0,20-0,79		2,66	1,26-5,61			1,85	0,94-3,64		0,38	0,19-0,78		
cas/témoins	57/118			34/72			23/46				23/59			34/59			
Q4	0,98	0,60-1,61		0,46	0,23-0,89		2,45	1,13-5,28			1,23	0,60-2,55		0,69	0,35-1,39		
Carence			0,6			0,004			0,02	0,002			0,3			0,03	0,03
cas/témoins	43/81			27/22			16/59				19/56			24/25			
<10ng/ml	1,00			1,00			1,00				1,00			1,00			
cas/témoins	190/385			103/197			87/188				89/185			101/200			
≥10ng/ml	0,88	0,57-1,38		0,38	0,20-0,74		2,22	1,12-4,40			1,39	0,74-2,61		0,50	0,26-0,95		
Insuffisance			0,7			0,06			0,003	0,002			0,6			0,8	0,8
cas/témoins	145/296			82/112			63/184				68/157			77/139			
<20ng/ml	1,00			1,00			1,00				1,00			1,00			
cas/témoins	88/170			48/107			40/63				40/84			48/86			
≥20ng/ml	1,06	0,75-1,50		0,63	0,39-1,01		2,32	1,34-4,03			1,14	0,67-1,91		1,06	0,65-1,73		

¹ Cas et témoins étaient appariés sur l’âge à l’inclusion [<40/40-44/45-49/50-54/55-65 ans], le groupe d’intervention de l’essai SU.VI.MAX [Antioxydants/Placebo], la période de prélèvement [Octobre-Novembre/ Décembre-Janvier/ Février-Mars/ Avril-Mai], la prise de THM à l’inclusion [oui/non], le statut ménopausique à l’inclusion [non ménopausée/ménopausée]. Les modèles étaient ajustés sur le niveau d’éducation [primaire/secondaire/supérieur], la pratique d’activité physique [irrégulière /<1h/jour d’équivalent marche /≥1h/jour d’équivalent marche], la consommation d’alcool [g/jour, continu], le statut tabagique [non-fumeurs/ ex-fumeurs/ fumeurs], la taille [cm, continu], l’IMC [kg/m², continu], les antécédents familiaux de cancer du sein [oui/non] et le nombre d’enfants biologiques [continu]. Des modèles de régression logistique conditionnelle ont été utilisés dans les analyses globales tandis que des modèles de régression logistique non conditionnelle ajustés sur les facteurs d’appariement (et autres facteurs de confusion potentiels) ont été utilisés dans les analyses stratifiées afin de limiter la perte de sujets appartenant à des paires discordantes. Les tests de tendance linéaire ont été réalisés en utilisant le score ordinal des quartiles de concentrations plasmatique en 25(OH)D.

² Seuils pour les quartiles de concentrations plasmatiques en 25(OH)D (ng/ml) : 11,4/16,6/23,5.

25OHD, 25-hydroxyvitamine D ; IMC, Indice de masse corporelle ; IC, intervalle de confiance ; OR, odds ratio ; Q, quartile ; SU.VI.MAX, Supplémentation en Vitamines et Minéraux Antioxydants ; THM, traitement hormonal de la ménopause.

Tableau 30 Associations entre polymorphismes des gènes *GC* et *VDR* et risque de cancer du sein, régression logistique multivariée¹ – Interactions avec la concentration plasmatique en 25(OH)D, l'IMC et la consommation d'alcool et analyses stratifiées, cohorte SU.VI.MAX, France (1994-2007)

SNPs	Overall			SNP x Concentration en 25(OH)D				SNP x IMC				SNP x Consommation d'alcool							
	OR	IC 95%	P-trend	25(OH)D <16,6ng/ml		25(OH)D ≥16,6ng/ml		IMC <22,4kg/m ²		IMC ≥22,4kg/m ²		Alcool <7,1g/jour		Alcool ≥7,1g/jour					
				OR	IC 95%	P-trend	P-inter	OR	IC 95%	P-trend	P-inter	OR	IC 95%	P-trend	P-inter				
GC rs4588																			
Codominant			0,04			0,07	0,4	0,6		0,1	0,3	0,8		0,03	0,3	0,5			
cas/témoins	101/227			45/107				56/120				60/108		41/119		44/115	57/112		
GG	1,00			1,00				1,00				1,00		1,00		1,00	1,00		
cas/témoins	89/181			55/88				34/93				40/83		49/98		44/93	45/88		
GT	1,16	0,81-1,66		1,70	1,00-2,88			0,76	0,44-1,29			0,79	0,46-1,35	1,55	0,91-2,65	1,54	0,90-2,65	0,96	0,57-1,62
cas/témoins	30/42			16/26				14/16				22/19		8/23		15/23	15/19		
TT	1,90	1,10-3,29		1,68	0,78-3,62			2,25	0,98-5,19			2,58	1,20-5,56	1,05	0,41-2,72	2,22	0,99-4,95	1,86	0,83-4,17
Dominant			0,1			0,04	0,8	0,1		0,8	0,1	0,4		0,047		0,7	0,4		
cas/témoins	101/227			45/107				56/120				60/108		41/119		44/115	57/112		
GG	1,00			1,00				1,00				1,00		1,00		1,00	1,00		
cas/témoins	119/223			71/114				48/109				62/102		57/121		59/116	60/107		
GT+TT	1,29	0,92-1,80		1,69	1,03-2,79			0,95	0,58-1,55			1,05	0,65-1,71	1,46	0,87-2,43	1,67	1,01-2,78	1,11	0,68-1,80
Récessif			0,03			0,5	0,02	0,3		0,004	0,7	0,05		0,1		0,1	0,9		
cas/témoins	190/408			100/195				90/213				100/191		90/217		88/208	102/200		
GG+GT	1,00			1,00				1,00				1,00		1,00		1,00	1,00		
cas/témoins	30/42			16/26				14/16				22/19		8/23		15/23	15/19		
TT	1,78	1,06-2,99		1,29	0,63-2,62			2,53	1,13-5,68			2,88	1,40-5,96	0,85	0,34-2,10	1,82	0,85-3,86	1,90	0,88-4,10
GC rs7041																			
Codominant			0,4			0,5	0,2	0,1		0,2	0,3	0,2		0,07		0,6	0,1		
cas/témoins	46/91			23/54				23/37				31/46		15/45		25/44	21/47		
AA	1,00			1,00				1,00				1,00		1,00		1,00	1,00		
cas/témoins	110/216			60/108				50/108				57/87		53/129		53/118	57/98		
AC	0,98	0,63-1,51		1,33	0,72-2,47			0,69	0,36-1,33			0,89	0,48-1,62	1,49	0,73-3,08	0,68	0,36-1,27	1,35	0,70-2,60
cas/témoins	66/145			33/59				33/86				36/78		30/67		27/72	39/73		
CC	0,83	0,51-1,34		1,29	0,64-2,58			0,62	0,31-1,24			0,69	0,36-1,32	1,53	0,69-3,40	0,51	0,25-1,05	1,23	0,62-2,45
Dominant			0,7			0,4	0,2	0,1		0,4	0,2	0,2		0,1		0,4	0,1		
cas/témoins	46/91			23/54				23/37				31/46		15/45		25/44	21/47		
AA	1,00			1,00				1,00				1,00		1,00		1,00	1,00		
cas/témoins	176/361			93/167				83/194				93/165		83/196		80/190	96/171		
AC+CC	0,92	0,61-1,38		1,32	0,73-2,37			0,66	0,36-1,22			0,80	0,45-1,40	1,51	0,75-3,02	0,61	0,34-1,12	1,30	0,70-2,39
Récessif			0,4			0,8	0,4	0,3		0,3	0,7	0,3		0,2		0,9	0,3		
cas/témoins	156/307			83/162				73/145				88/133		68/174		78/162	78/145		
AA+AC	1,00			1,00				1,00				1,00		1,00		1,00	1,00		
cas/témoins	66/145			33/59				33/86				36/78		30/67		27/72	39/73		
CC	0,84	0,59-1,21		1,05	0,61-1,81			0,81	0,48-1,36			0,75	0,45-1,24	1,12	0,64-1,96	0,68	0,39-1,19	1,00	0,60-1,66

VDR BsmI															
Codominant		0,1		0,9		0,1	0,4		0,3		0,2	0,8		0,4	0,002 0,01
cas/témoins	89/157		50/80		39/77		48/78		41/79		38/89		51/68		
CC	1,00		1,00		1,00		1,00		1,00		1,00		1,00		
cas/témoins	96/189		39/91		57/98		59/89		37/100		43/95		53/94		
CT	0,85	0,59-1,23	0,68	0,39-1,20	1,13	0,66-1,92	1,03	0,61-1,74	0,72	0,40-1,29	1,03	0,59-1,80	0,67	0,40-1,14	
cas/témoins	34/86		24/40		10/46		16/35		18/51		22/38		12/48		
TT	0,67	0,41-1,09	1,06	0,54-2,07	0,43	0,19-0,97	0,59	0,29-1,23	0,69	0,34-1,40	1,37	0,69-2,74	0,30	0,14-0,65	
Dominant		0,2		0,4		0,7	0,5		0,6		0,2	0,4		0,6	0,02 0,08
cas/témoins	89/157		50/80		39/77		48/78		41/79		38/89		51/68		
CC	1,00		1,00		1,00		1,00		1,00		1,00		1,00		
cas/témoins	130/275		63/131		67/144		75/124		55/151		65/133		65/142		
CT+TT	0,79	0,56-1,12	0,79	0,48-1,32	0,91	0,55-1,51	0,89	0,55-1,46	0,71	0,42-1,21	1,13	0,68-1,89	0,55	0,33-0,90	
Récessif		0,2		0,4		0,02	0,03		0,1		0,5	0,7		0,3	0,007 0,01
cas/témoins	185/346		89/171		96/175		107/167		78/179		81/184		104/162		
CC+CT	1,00		1,00		1,00		1,00		1,00		1,00		1,00		
cas/témoins	34/86		24/40		10/46		16/35		18/51		22/38		12/48		
TT	0,73	0,47-1,15	1,29	0,71-2,36	0,40	0,19-0,85	0,58	0,30-1,15	0,82	0,43-1,55	1,35	0,73-2,51	0,38	0,19-0,77	
VDR FokI															
Codominant		0,8		0,8		0,9	0,8		0,3		0,5	0,2		0,4	0,3 0,2
cas/témoins	78/174		40/86		38/88		43/90		35/84		37/82		41/92		
GG	1,00		1,00		1,00		1,00		1,00		1,00		1,00		
cas/témoins	102/204		56/103		46/101		52/88		50/116		49/112		53/92		
GA	0,99	0,69-1,44	1,06	0,63-1,79	0,90	0,52-1,56	1,12	0,65-1,91	0,97	0,56-1,68	0,85	0,49-1,47	1,19	0,70-2,02	
cas/témoins	43/81		21/36		22/45		30/39		13/42		18/44		25/37		
AA	1,08	0,67-1,74	1,08	0,54-2,18	1,07	0,55-2,09	1,41	0,75-2,66	0,72	0,33-1,59	0,75	0,37-1,53	1,38	0,71-2,72	
Dominant		0,9		0,8		0,8	0,7		0,4		0,7	0,3		0,4	0,4 0,2
cas/témoins	78/174		40/86		38/88		43/90		35/84		37/82		41/92		
GG	1,00		1,00		1,00		1,00		1,00		1,00		1,00		
cas/témoins	145/285		77/139		68/146		82/127		63/158		67/156		78/129		
GA+AA	1,02	0,72-1,44	1,06	0,65-1,75	0,95	0,57-1,58	1,21	0,74-1,98	0,90	0,54-1,53	0,82	0,49-1,37	1,24	0,76-2,04	
Récessif		0,7		0,9		0,7	0,9		0,3		0,4	0,2		0,5	0,5 0,4
cas/témoins	180/378		96/189		84/189		95/178		85/200		86/194		94/184		
GG+GA	1,00		1,00		1,00		1,00		1,00		1,00		1,00		
cas/témoins	43/81		21/36		22/45		30/39		13/42		18/44		25/37		
AA	1,09	0,71-1,66	1,05	0,55-1,97	1,14	0,62-2,07	1,33	0,75-2,34	0,74	0,36-1,51	0,82	0,43-1,57	1,25	0,69-2,29	

¹ Les modèles de régression logistique non conditionnelle étaient ajustés sur les facteurs d'appariement: âge à l'inclusion [<40/40-44/45-49/50-54/55-65 ans], groupe d'intervention de l'essai SU.VI.MAX [Antioxydants/Placebo], période de prélèvement [Octobre-Novembre/ Décembre-Janvier/ Février-Mars/ Avril-Mai], prise de THM à l'inclusion [oui/non], statut ménopausique à l'inclusion [non ménopausée/ménopausée] et étaient également ajustés sur la concentration plasmatique en 25(OH)D à l'inclusion [ng/ml, continu], le niveau d'éducation [primaire/secondaire/supérieur], la pratique d'activité physique [irrégulière /<1h/jour d'équivalent marche /≥1h/jour d'équivalent marche], la consommation d'alcool [g/jour, continu], le statut tabagique [non-fumeurs/ ex-fumeurs/ fumeurs], la taille [cm, continu], l'IMC [kg/m², continu], les antécédents familiaux de cancer du sein [oui/non] et le nombre d'enfants biologiques [continu]. Des tests de tendance linéaire ont été réalisés pour le modèle codominant en utilisant le score ordinal des 3 génotypes.

25OHD, 25-hydroxyvitamine D ; IMC, Indice de masse corporelle ; IC, intervalle de confiance ; OR, odds ratio ; SNP, Single Nucleotide Polymorphism ; SU.VI.MAX, Supplémentation en Vitamines et Minéraux Antioxydants ; THM, traitement hormonal de la ménopause.

D) Discussion et mise en regard de la littérature

Dans cette étude cas-témoin nichée, l'IMC et la consommation d'alcool étaient des modificateurs de l'association entre la vitamine D et le risque de cancer du sein. La concentration plasmatique en 25(OH)D était en effet associée à une diminution de risque de cancer du sein chez les femmes avec un IMC < médiane alors qu'une augmentation de risque était observée chez les femmes avec un IMC ≥ médiane. Une concentration plasmatique en 25(OH)D ≥10ng/ml était associée à une diminution de risque de cancer du sein chez les femmes avec une consommation d'alcool ≥ médiane alors qu'aucune association n'était observée chez les femmes avec une consommation d'alcool < médiane. Les résultats observés avec les SNPs des gènes *VDR* et *GC* étaient cohérents avec ceux observés avec le statut en vitamine D.

L'absence d'association entre le statut en vitamine D et le risque de cancer du sein au global était cohérent avec une récente méta-analyse de 14 études prospectives [138], en dépit d'hypothèses mécanistique suggérant que la vitamine D pourrait jouer un rôle protecteur dans la carcinogenèse du sein [118, 137]. Dans notre étude, des interactions entre la vitamine D et l'IMC et la consommation d'alcool ont été observées et pourraient constituer des hypothèses intéressantes pour expliquer cette absence d'association au global.

L'interaction entre la concentration en 25(OH)D et l'IMC a déjà été observée dans de précédentes études prospectives portant sur de larges échantillons (EPIC, NHS) avec des résultats conformes aux nôtres [148-150], à savoir une association inverse entre la vitamine D et le risque de cancer du sein chez les femmes minces et/ou une association directe chez les femmes avec un IMC plus élevé. La diminution de risque de cancer du sein observée chez les femmes avec un IMC < médiane peut s'expliquer par différentes propriétés de la vitamine D observées dans des études expérimentales : régulation du cycle cellulaire, régulation des estrogènes circulants ou implication dans des voies anti-inflammatoires [118, 137]. A l'inverse, quelques hypothèses peuvent être avancées pour expliquer l'association directe entre la concentration en 25(OH)D et le risque de cancer du sein chez les femmes avec un IMC ≥ médiane. Une augmentation de l'IMC a été associée à de moindres concentrations sanguines en 25(OH)D [75, 146], probablement du fait d'une dilution de la 25(OH)D lipophile dans la masse grasse. De plus, certaines données suggèrent que des concentrations plus faibles en 25(OH)D (telles qu'observées chez des individus avec un IMC plus élevé), généralement décrites comme ayant des conséquences néfastes chez des individus de poids normal (ex. élévation de la concentration en PTH) pourraient ne pas avoir les mêmes conséquences chez des individus en surpoids ou obèses et pourraient en réalité être considérées comme « normales » [263]. Par ailleurs, la synthèse de 1,25(OH)₂D dépend d'un ratio entre l'activité de ses enzymes de dégradation et de production. Ce ratio serait positivement corrélé avec la concentration sanguine en 25(OH)D, avec une dégradation plus importante des 25(OH)D et 1,25(OH)₂D lorsque le statut en vitamine D est élevé [264, 265]. De plus, dans le tissu adipeux des personnes obèses, ce ratio serait altéré, avec une diminution de l'activité de l'enzyme de production mais aucune différence pour l'activité de l'enzyme de dégradation [147]. Ceci suggère donc que, chez les individus en surpoids ou obèses, une concentration plus élevée en 25(OH)D pourrait être associée à une dégradation plus importante de la 1,25(OH)₂D et donc à un moindre signal antiprolifératif dans le tissu adipeux et son environnement. Ce mécanisme pourrait donc impacter les cellules mammaires étant donné que la glande mammaire est entourée de tissu adipeux [266].

A notre connaissance, cette étude était la première cohorte prospective à observer une interaction significative entre la concentration plasmatique en 25(OH)D et la consommation

d'alcool vis-à-vis du risque de cancer du sein (interaction testée précédemment dans des études cas-témoins non prospectives [267, 268]). L'absence de carence en vitamine D était associée à une diminution de risque de cancer du sein chez les femmes avec une consommation d'alcool \geq médiane. La consommation d'alcool a été associée à une augmentation de risque de cancer du sein [145], y compris dans la cohorte SU.VI.MAX [269]. Différents mécanismes ont été proposés pour expliquer cette association directe entre consommation d'alcool et risque de cancer du sein, par exemple : augmentation de la concentration en estrogènes circulants [153] et du stress oxydant [154]. A contrario, la vitamine D a été associée à une diminution du signal estrogène [118, 137] et jouerait un rôle dans des voies anti-inflammatoires [38, 118]. Le fait d'éviter une carence en vitamine D pourrait donc contribuer à contrer certains effets délétères de la consommation d'alcool sur la carcinogenèse mammaire. Contrairement à l'interaction avec l'IMC, l'interaction avec la consommation d'alcool n'était observée qu'avec le codage « carence » ($</\geq 10\text{ng/ml}$) et nécessite donc de plus amples confirmations dans d'autres cohortes.

La littérature traitant des polymorphismes *GC* rs4588 et rs7041 en relation avec le risque de cancer du sein est limitée avec, à notre connaissance, seulement trois études cas-témoins. Le polymorphisme *GC* rs4588 n'était pas associé au risque de cancer du sein dans ces trois études ; le génotype *GC* rs7041 CC était associé à une augmentation de risque de cancer du sein [143] ou non associé [144] ; l'haplotype Gc2-Gc2 (*GC* rs4588 TT/rs7041 AA) était associé à une diminution de risque de cancer du sein [123] ou non associé [143]. Dans notre étude, le génotype *GC* rs4588 TT et l'haplotype Gc2-Gc2 étaient associés à une augmentation de risque de cancer du sein. Des hypothèses mécanistiques sont en accord avec ces résultats. D'une part, les génotypes *GC* rs4588 TT et rs7041 AA ont été associés à un moindre statut en vitamine D [82, 85] (voir Partie 1. II.). Par ailleurs, la forme Gc2 de la VDBP a une plus faible affinité pour la 25(OH)D [270], ce qui pourrait avoir un impact sur l'endocytose active du complexe VDBP-25(OH)D dans les cellules mammaires [33] et ainsi pourrait conduire à une réduction du signal de la 1,25(OH)₂D. La forme Gc2 de la VDBP serait également associée à une diminution de la production et/ou de l'activité du VDBP macrophage activating factor qui présente des propriétés anti-tumorales [27, 124, 125, 271, 272].

L'absence d'association au global entre le polymorphisme *VDR* BsmI et le risque de cancer du sein est cohérente avec les résultats de récentes méta-analyses [139, 140] mais pourrait également être en partie expliquée par des interactions avec le statut en vitamine D et la consommation d'alcool, comme observées dans notre étude. Certaines études ont suggéré que l'allèle *VDR* BsmI B pourrait être associé à une expression accrue de l'ARNm du *VDR* par rapport à l'allèle b [120]. Ceci pourrait donc résulter en une augmentation du signal de la 1,25(OH)₂D et ainsi à une réduction de risque de cancer du sein, en particulier dans certains groupes « à risque » (en lien avec nos résultats montrant une diminution de risque de cancer du sein chez les femmes avec une consommation d'alcool \geq médiane), à condition d'une présence suffisante du précurseur de la 1,25(OH)₂D (en lien avec nos résultats montrant une diminution de risque de cancer du sein chez les femmes avec une concentration plasmatique en 25(OH)D \geq médiane).

Dans cette étude prospective, des interactions avec l'IMC et la consommation d'alcool ont été observées dans les analyses portant sur l'association entre le statut en vitamine D et le risque de cancer du sein et également dans les analyses génétiques.

Nos résultats ont montré qu'un statut plus élevé en vitamine D était associé à une diminution de risque de cancer du sein chez les femmes minces alors qu'il était associé à une augmentation de risque chez les femmes avec un IMC plus élevé. Un statut en vitamine D plus élevé était également associé à une diminution de risque de cancer du sein chez les femmes avec des consommations d'alcool modérées à élevées, alors qu'aucune association n'était observée chez celles avec de faibles consommations d'alcool. Ces effets modificateurs pourraient contribuer à expliquer les contrastes observés dans les précédents résultats épidémiologiques.

II. Vitamine D et risque de cancer de la prostate

Deschasaux M, Souberbielle JC, Latino-Martel P, Sutton A, Charnaux N, Druetne-Pecollo N, Galan P, Hercberg S, Le Clerc S, Kesse-Guyot E, Ezzedine K, Touvier M. A prospective study of plasma 25-hydroxyvitamin D concentration and prostate cancer risk. **Br J Nutr.** 2016 Jan 28;115(2):305-14.

L'article issu de ces résultats est présenté en **Annexe 6**.

A) Population d'étude

Dans la cohorte SU.VI.MAX, 184 cas de cancer de la prostate ont été diagnostiqués au cours du suivi (1994-2007) et ont été appariés à 384 témoins. Dans cette étude, un appariement supplémentaire a été réalisé sur l'IMC (<25/ ≥25kg/m²). Ainsi, l'analyse a été conduite sur 129 cas de cancers de la prostate et 167 témoins appariés. L'âge moyen au diagnostic était de 63,0 ans et la durée moyenne entre l'inclusion et le diagnostic était de 8,3 ans. 43,2% des cas présentaient un score de Gleason ≥7, indiquant une forme plus agressive de cancer de la prostate.

B) Analyses statistiques

Les associations entre le risque de cancer de la prostate et les concentrations plasmatiques en 25(OH)D et PTH, les apports alimentaires en calcium et vitamine D et les 10 SNPs sélectionnés ont été étudiées à l'aide de modèles de régression logistique conditionnelle multivariés. Ces modèles étaient ajustés sur différents facteurs de confusion potentiels : (1) facteurs liés à l'étude – groupe d'intervention de l'essai SU.VI.MAX et saison de prélèvement (périodes de 2 mois) ; (2) facteurs de risque de cancer – caractéristiques sociodémographiques (âge à l'inclusion (continu) et niveau d'étude), facteurs liés au mode de vie (activité physique, consommation d'alcool et statut tabagique), caractéristiques anthropométriques (taille et IMC), facteurs reflétant une plus forte sensibilité au risque de cancer de la prostate (antécédents familiaux de cancer de la prostate et concentration sérique en prostate-specific antigen (PSA) à l'inclusion). Les modèles portant sur les SNPs étaient également ajustés sur la concentration plasmatique en 25(OH)D.

Des ajustements supplémentaires ont été testés sur l'apport énergétique sans alcool (continu, kcal/jour) et certains facteurs nutritionnels pour lesquels une association avec le risque de cancer de la prostate a été rapportée [158] (i.e. apports alimentaires en calcium (continu, mg/jour) et produits laitiers (continu, g/jour), concentrations plasmatiques en sélénium (continu, μmol/l) et α-tocophérol (continu, μmol/l)). Enfin, un ajustement mutuel sur les concentrations en 25(OH)D et PTH a été réalisé.

Pour tous les modèles incluant des données alimentaires, seuls les participants ayant fourni au moins 3 enregistrements de 24h valides au cours des 2 premières années de suivi étaient inclus (96 cas/123 témoins). Pour les analyses portant sur leur association avec le risque de cancer de la prostate, les apports alimentaires en vitamine D et calcium ont été ajustés sur l'apport énergétique en utilisant la méthode des résidus [273].

La concentration plasmatique en 25(OH)D a été codée comme une variable continue, en quartiles et selon le seuil d'insuffisance (<20ng/ml). La concentration plasmatique en PTH a été codée comme une variable continue et en quartiles. Les SNPs ont été étudiés selon 3 modalités : codominant, dominant et récessif.

Par ailleurs, considérant les relations existant entre la vitamine D, la PTH et le calcium [29, 32, 274], des interactions deux à deux ont été testées entre d'une part la concentration plasmatique en 25(OH)D, la concentration plasmatique en PTH et l'apport alimentaire en calcium et d'autre part entre les 10 SNPs sélectionnés et la concentration plasmatique en 25(OH)D.

C) Résultats

La **Tableau 31** regroupe l'ensemble des caractéristiques des cas et des témoins. Comparés aux témoins, les cas de cancers de la prostate étaient plus susceptibles de présenter un plus faible statut en vitamine D et d'être plus éduqués. Une carence en vitamine D (<10ng/ml) était observée chez 14% des cas et 13,8% des témoins et une insuffisance en vitamine D (<20ng/ml) était observée chez 62,8% des cas et 54,5% des témoins, sans différence significative entre cas et témoins. Une fluctuation saisonnière du statut en vitamine D était observée chez les témoins avec une diminution du statut entre Octobre et Mars et une augmentation du statut en Avril-Mai.

Tableau 31 Caractéristiques à l'inclusion des cas de cancer de la prostate et de leurs témoins, cohorte SU.VI.MAX, France (1994-2007)

	Cas de cancer de la Prostate (N=129)				Témoins (N=167)				P ¹
	N	%	Moy	SD	N	%	Moy	SD	
Age (années)			54,7	4,7			54,6	4,5	0,9
Indice de Masse Corporelle (IMC, kg/m ²)			25,8	3,2			25,6	3,1	0,6 0,9
<25	55	42,6			70	41,9			
≥25	74	57,4			97	58,1			
Taille (cm)			173,5	6,6			172,8	6,7	0,4 0,9
Groupe d'intervention de l'essai SU.VI.MAX									
Antioxydants	55	42,6			72	43,1			
Placebo	74	57,4			95	56,9			
Statut tabagique									0,8
Non-fumeurs	54	41,9			65	38,9			
Ex-fumeurs	59	45,7			78	46,7			
Fumeurs	16	12,4			24	14,4			
Activité physique									0,7
Irrégulière	28	21,7			36	21,6			
<1h/jour d'équivalent marche	37	28,7			41	24,6			
≥1h/jour d'équivalent marche	64	49,6			90	53,9			
Niveau d'étude									0,03
Primaire	26	20,2			56	33,5			
Secondaire	44	34,1			54	32,3			
Supérieur	59	45,7			57	34,1			
Concentration en Prostate Specific Antigen (PSA, µg/l)			3,4	3,6			1,3	1,3	<,0001
PSA ≥3µg/l	42	32,6			14	8,4			<,0001
Antécédents familiaux de cancer de la prostate (oui) ²	14	10,9			9	5,4			0,1
Score de Gleason ≥7 ³	60	49,2							
Consommation d'alcool (g/jour)			28,5	21,4			28,5	23,6	0,98
Apports énergétiques (sans alcool, kcal/jour) ⁴			2187,2	608,4			2293,9	480,0	0,1
Apports alimentaires en calcium (mg/jour) ⁴			1002,7	394,0			1052,8	331,2	0,3
Apports alimentaires en vitamine D (µg/jour) ⁴			2,9	2,0			3,2	2,1	0,3
Période de prélèvement									0,2
Octobre-Novembre	10	7,8			26	15,6			
Décembre-Janvier	38	29,5			47	28,1			
Février-Mars	62	48,1			69	41,3			
Avril-Mai	19	14,7			25	15,0			

Concentration en 25(OH)D (ng/ml)		18,7	8,9	20,5	9,7	0,1
Octobre-Novembre		22,5	10,8	24,2	8,1	
Décembre-Janvier		20,2	10,4	23,5	11,3	
Février-Mars		17,9	7,9	17,4	8,4	
Avril-Mai		16,5	6,7	19,5	8,6	
Concentration en PTH (ng/l)		26,4	7,4	27,3	9,6	0,4
VDR Bsm1 rs1544410 ⁵						0,6
CC (WT)	45	36,3		53	33,8	
CT (HT)	62	50,0		75	47,8	
TT (MT)	17	13,7		29	18,5	
VDR FokI rs2228570 ⁵						0,1
GG (WT)	45	35,4		75	45,7	
AG (HT)	64	50,4		62	37,8	
AA (MT)	18	14,2		27	16,5	
VDR Cdx2 rs11568820 ⁵						0,3
CC (WT)	75	60,5		86	54,1	
CT (HT)	41	33,1		66	41,5	
TT (MT)	8	6,5		7	4,4	
CYP24A1 rs4809958 ⁵						0,7
GG (WT)	84	67,7		110	67,9	
GT (HT)	39	31,5		49	30,3	
TT (MT)	1	0,8		3	1,9	
GC rs4588 ⁵						0,3
GG (WT)	71	57,3		82	49,7	
GT (HT)	43	34,7		63	38,2	
TT (MT)	10	8,1		20	12,1	
GC rs7041 ⁵						0,2
AA (WT)	19	15,0		39	23,6	
AC (HT)	63	49,6		76	46,1	
CC (MT)	45	35,4		50	30,3	
RXR rs7861779 ⁵						0,7
CC (WT)	93	73,8		116	73,9	
CT (HT)	31	24,6		40	25,5	
TT (MT)	2	1,6		1	0,6	
RXR rs12004589 ⁵						0,5
GG (WT)	104	81,9		129	78,7	
GT (HT)	21	16,5		34	20,7	
TT (MT)	2	1,6		1	0,6	
CaSR rs1801725 ⁵						0,4
GG (WT)	91	72,8		114	70,4	
GT (HT)	29	23,2		45	27,8	
TT (MT)	5	4,0		3	1,9	
CaSR rs4678174 ⁵						0,8
TT (WT)	62	50,8		76	47,2	
CT (HT)	52	42,6		72	44,7	
CC (MT)	8	6,6		13	8,1	

¹ P pour la comparaison des caractéristiques entre cas de cancers de la prostate et témoins, obtenus à partir de tests du χ^2 (variables catégorielles) ou de tests de Fisher (analyses de la variance, variables quantitatives).

² Parmi les proches au premier degré.

³ Données disponibles pour 122 cas.

⁴ Moyenne des apports alimentaires déclarés sur l'ensemble des enregistrements alimentaires de 24h des deux premières années du suivi, données disponibles pour 167 témoins et 122 cas.

⁵ Données manquantes : 15 (rs1544410), 5 (rs2228570), 13 (rs11568820), 10 (rs4809958), 7 (rs4588), 4 (rs7041), 13 (rs7861779), 5 (rs12004589), 9 (rs1801725), 13 (rs4678174).

WT, homozygote sauvage ; HT, hétérozygote ; MT, homozygote muté ; SD, écart-type ; SU.VI.MAX, Supplémentation en Vitamines et Minéraux Antioxydants.

La concentration plasmatique en 25(OH)D était inversement associée au risque de cancer de la prostate (OR per 1ng/ml=0,96 (0,93-1,00), P-trend=0,04 ; OR Q4 vs. Q1=0,30 (0,12-0,77), P-trend=0,007; OR ≥ 20 vs. < 20 ng/ml=0,44 (0,23-0,85), P=0,01, **Tableau 32**; OR per 30nmol/l=0,64 (0,42-0,97), P-trend=0,04, données non tabulées).

Des résultats similaires ont été observés suite à l'exclusion des cas diagnostiqués au cours des 5 premières années de suivi (109 cas/140 témoins, OR per 1ng/ml=0,96 (0,93-1,00), P-trend=0,04 ; OR Q4 vs. Q1=0,33 (0,12-0,86), P-trend=0,01 ; OR ≥ 20 vs. < 20 ng/ml=0,45 (0,23-0,89), P=0,02, données non tabulées).

Aucune interaction n'a été observée entre la concentration en 25(OH)D et le groupe d'intervention de l'essai SU.VI.MAX (P-interaction $> 0,1$ pour tous les codages).

La concentration plasmatique en PTH n'était pas associée au risque de cancer de la prostate (OR Q4 vs. Q1=0,66 (0,28-1,55), P-trend=0,4) (**Tableau 32**). Ce résultat était similaire après exclusion des participants avec une possible concentration anormale en PTH pouvant suggérer une hyperparathyroïdie (i.e. PTH $\geq 50,8$ ng/l pour une 25(OH)D < 20 ng/ml, PTH $\geq 45,5$ ng/l pour une 20 ng/ml \leq 25(OH)D < 30 ng/ml et PTH $\geq 45,3$ ng/l pour une 25(OH)D ≥ 30 ng/ml, comme présenté dans la Partie 1. IV.).

Les apports alimentaires en calcium (96 cas/123 témoins, OR Q4 vs. Q1=0,83 (0,20-3,43), P-trend=0,5, données non tabulées) et en vitamine D (96 cas/123 témoins, OR Q4 vs. Q1=1,05 (0,40-2,81), P-trend=0,7, données non tabulées) n'étaient pas associés avec le risque de cancer de la prostate.

Tous les résultats étaient similaires lorsque les résultats étaient ajustés sur les variables liées à l'alimentation (bien que certains résultats n'étaient qu'à la limite de la significativité étant donnée la perte de puissance statistique : 96 cas/123 témoins), l'apport alimentaire en calcium et l'ajustement mutuel entre concentrations en 25(OH)D et PTH. Les interactions deux à deux entre 25(OH)D, PTH et apports alimentaires en calcium n'étaient pas significatives (tous P $> 0,1$, données non présentées).

Tableau 32 Associations entre les concentrations plasmatiques en 25(OH)D et PTH et le risque de cancer de la prostate, régression logistique conditionnelle, cohorte SU.VI.MAX, France (1994-2007)

	Pour une augmentation d'1 unité			Quartiles ¹						Insuffisance			P		
	OR	IC 95%	P-trend	Q1		Q2		Q3		Q4		<20ng/ml		≥20ng/ml	
				OR	OR	IC 95%	OR	IC 95%	OR	IC 95%	OR	OR		IC 95%	
25(OH)D (ng/ml)															
cas/témoins	129/167			42/32	31/43		25/49		31/43			81/91	48/76		
Modèle 1†	0,96	0,93-1,00	0,04	1,00	0,44	0,19-1,04	0,18	0,07-0,49	0,30	0,12-0,77	0,007	1,00	0,44,	0,23-0,85	0,01
cas/témoins	96/123			27/20	23/35		20/35		26/33			57/66	39/57		
Modèle 2†	0,95	0,91-1,00	0,06	1,00	0,35	0,12-1,07	0,13	0,04-0,49	0,25	0,08-0,81	0,02	1,00	0,43	0,19-1,00	0,05
cas/témoins	96/123			27/20	23/35		20/35		26/33			57/66	39/57		
Modèle 3†	0,96	0,91-1,01	0,08	1,00	0,33	0,11-1,03	0,12	0,03-0,46	0,28	0,08-0,95	0,03	1,00	0,43	0,18-1,01	0,05
PTH (ng/l)															
cas/témoins	129/167			31/43	34/40		34/40		30/44						
Modèle 1†	0,97	0,94-1,01	0,1	1,00	0,90	0,40-2,05	0,95	0,40-2,27	0,66	0,28-1,55	0,4				
cas/témoins	96/123			20/35	30/26		27/30		19/32						
Modèle 2†	0,96	0,91-1,01	0,09	1,00	1,72	0,60-4,90	1,95	0,62-6,18	0,77	0,25-2,36	0,6				
cas/témoins	96/123			20/35	30/26		27/30		19/32						
Modèle 3†	0,96	0,91-1,01	0,1	1,00	1,63	0,56-4,77	2,25	0,67-7,59	0,81	0,25-2,62	0,8				

¹ Modèle 1: seuils pour les quartiles de concentrations plasmatiques en 25(OH)D (ng/ml) et PTH (ng/l) : respectivement, 12,9/18,2/24,7 et 20,9/26,0/30,6.

Les modèles 2 et 3 sont restreints aux hommes ayant fourni au moins 3 enregistrements de 24h valides au cours des deux premières années de suivi (96 cas/123 témoins). Les seuils pour les quartiles de concentrations plasmatiques en 25(OH)D (ng/ml) et PTH (ng/l) deviennent donc respectivement 13,7/18,5/25,2 et 20,9/25,9/30,2.

² Le modèle 1 était ajusté sur l'âge à l'inclusion [continu, facteur d'appariement], le groupe d'intervention de l'essai SU.VI.MAX [Antioxydants/Placebo, facteur d'appariement], la période de prélèvement [Octobre-Novembre/ Décembre-Janvier/ Février-Mars/ Avril-Mai], le niveau d'éducation [primaire/secondaire/supérieur], la pratique d'activité physique [irrégulière /<1h/jour d'équivalent marche /≥1h/jour d'équivalent marche], la consommation d'alcool [g/jour, continu], le statut tabagique [non-fumeurs/ ex-fumeurs/ fumeurs], la taille [cm, continu], l'IMC [kg/m², continu, facteur d'appariement], les antécédents familiaux de cancer de la prostate [oui/non] et la concentration sérique en prostate-specific antigen (PSA) à l'inclusion [<3/≥3ng/l]

Le modèle 2 correspond au modèle 1 avec un ajustement supplémentaire sur l'apport énergétique (sans alcool) [continu, kcal/jour], les apports alimentaires en calcium [continu, mg/jour] et en produits laitiers [continu, g/jour], les concentrations plasmatiques en sélénium [continu, μmol/l] et en α-tocophérol [continu, μmol/l].

Le modèle 3 correspond au modèle 2 avec un ajustement mutuel sur les concentrations plasmatiques en 25(OH)D et PTH [continu].

25(OH)D, 25-hydroxyvitamine D ; IC, intervalle de confiance ; OR, odds ratio ; PTH, hormone parathyroïdienne ; Q, quartile ; SU.VI.MAX, Supplémentation en Vitamines et Minéraux Antioxydants

Aucune association n'était observée entre les 10 SNPs étudiés et le risque de cancer de la prostate dans les modèles codominants (**Tableau 33**), dominants et récessifs (données non tabulées). Aucune interaction n'était observée entre la concentration en 25(OH)D et les 10 SNPs (tous P>0.1, données non présentées). Puisqu'aucune association n'était détectée entre les 10 SNPs et le risque de cancer de la prostate avec un seuil de significativité à 5%, aucune association n'est détectée après correction pour tests multiples (Bonferroni) [données non présentées].

Tableau 33 Associations entre 10 polymorphismes de gènes impliqués dans le métabolisme de la vitamine D et le risque de cancer de la prostate, régression logistique conditionnelle¹, cohorte SU.VI.MAX, France (1994-2007)

	WT	HT		MT		
	OR	OR	IC 95%	OR	IC 95%	P-trend
VDR BsmI rs1544410						
cas/témoins ²	42/52	60/73		16/27		
	1,00	1,13	0,57-2,22	0,81	0,34-1,92	0,8
VDR FokI rs2228570						
cas/témoins ²	43/74	64/61		18/26		
	1,00	1,86	0,98-3,52	1,06	0,46-2,48	0,5
VDR Cdx2 rs11568820						
cas/témoins ²	72/83	38/62		8/7		
	1,00	0,52	0,27-1,01	0,61	0,17-2,20	0,1
CYP24A1 rs4809958						
cas/témoins ²	82/106	39/46		1/3		
	1,00	0,79	0,40-1,57	0,25	0,02-3,56	0,3
GC rs4588						
cas/témoins ²	70/79	42/59		10/20		
	1,00	0,90	0,47-1,70	0,69	0,24-1,96	0,5
GC rs7041						
cas/témoins ²	19/38	61/75		45/49		
	1,00	1,34	0,54-3,33	1,39	0,60-3,26	0,5
RXR rs7861779						
cas/témoins ²	87/114	30/38		2/1		
	1,00	1,19	0,59-2,41	4,49	0,21-95,0	0,5
RXR rs12004589						
cas/témoins ²	102/128	21/32		2/1		
	1,00	0,71	0,34-1,52	2,76	0,14-52,9	0,6
CaSR rs1801725						
cas/témoins ²	86/111	29/43		5/3		
	1,00	0,72	0,35-1,46	2,47	0,36-16,8	0,9
CaSR rs4678174						
cas/témoins ²	60/72	49/67		7/12		
	1,00	0,74	0,40-1,39	0,37	0,09-1,43	0,1

¹ Ajusté sur la concentration plasmatique en 25(OH)D [continu, ng/ml], l'âge à l'inclusion [continu, facteur d'appariement], le groupe d'intervention de l'essai SU.VI.MAX [Antioxydants/Placebo, facteur d'appariement], le niveau d'éducation [primaire/secondaire/supérieur], la pratique d'activité physique [irrégulière /<1h/jour d'équivalent marche /≥1h/jour d'équivalent marche], la consommation d'alcool [g/jour, continu], le statut tabagique [non-fumeurs/ ex-fumeurs/ fumeurs], la taille [cm, continu], l'IMC [kg/m², continu, facteur d'appariement], les antécédents familiaux de cancer de la prostate [oui/non] et la concentration sérique en prostate-specific antigen (PSA) à l'inclusion [<3/≥3ng/l].

² Données manquantes : 15 (rs1544410), 5 (rs2228570), 13 (rs11568820), 10 (rs4809958), 7 (rs4588), 4 (rs7041), 13 (rs7861779), 5 (rs12004589), 9 (rs1801725), 13 (rs4678174). Du fait du modèle de régression logistique conditionnelle (analyses appariées), les cas sans témoins et les témoins sans cas ont été supprimés des analyses.

25(OH)D, 25-hydroxyvitamine D ; IC, intervalle de confiance ; OR, odds ratio ; WT, homozygote sauvage ; HT, hétérozygote ; MT, homozygote muté ; SU.VI.MAX, Supplémentation en Vitamines et Minéraux Antioxydants

D) Discussion et mise en regard de la littérature

Dans cette étude prospective, la concentration plasmatique en 25(OH)D était inversement associée au risque de cancer de la prostate. Aucune association n'a été détectée pour la concentration plasmatique en PTH ou les SNPs étudiés.

Nous avons observé une association inverse entre concentration en 25(OH)D et risque de cancer de la prostate. Récemment, une méta-analyse de type « élevé vs faible » par Xu et al. [275] (OR élevé vs. faible=1,17 (1,05-1,30)) et une méta-analyse de type dose-réponse par le WCRF [158] (RR per 30nmol/l=1,04 (1,00, 1,07)) ont suggéré une augmentation de risque de cancer de la prostate associée à une concentration en 25(OH)D plus élevée. Par ailleurs, dans une précédente étude menée par Tuohimaa et al. [276], des concentrations en 25(OH)D à la fois élevées et faibles étaient associées à une augmentation de risque de cancer de la prostate : une augmentation de risque a en effet été observée pour une concentration en 25(OH)D ≥ 32 ng/ml ou $< 15,6$ ng/ml comparé à 16-23,6ng/ml. Cette « courbe en U » pour l'association entre la concentration en 25(OH)D et le risque de cancer de la prostate est également supportée par la non-linéarité observée dans la méta-analyse dose-réponse du WCRF [158].

Dans notre étude, l'amplitude des concentrations en 25(OH)D observée (95ème percentile=36,3ng/ml) pourrait être positionnée dans la partie gauche de cette « courbe en U », ce qui pourrait expliquer pourquoi une diminution de risque a été observée pour des concentrations en 25(OH)D ≥ 20 ng/ml ou $\geq 18,2$ ng/ml (médiane) comparées à des concentrations respectivement < 20 ng/ml (insuffisance) ou $< 12,9$ ng/ml (quartile 1). Ces résultats sont cohérents avec une étude précédente menée par Kristal et al. [277] ayant observé une diminution de risque de cancer de la prostate associée à des concentrations en 25(OH)D entre 23,3 et 29,2ng/ml (3ème quartile) comparées à des concentrations $< 17,7$ ng/ml (1er quartile). Au contraire, certaines études ayant observé une augmentation de risque pourraient faire intervenir des concentrations en 25(OH)D qui se situeraient dans la partie droite de la courbe. Par exemple, Brandstedt et al. [166] ont observé une augmentation de risque pour des concentrations en 25(OH)D ≥ 34 ng/ml comparées à des concentrations $\leq 27,2$ ng/ml, et Meyer et al. [278] ont observé une augmentation de risque pour des concentrations en 25(OH)D ≥ 28 ng/ml comparées à des concentrations situées entre 20ng/ml et 28ng/ml. Enfin, d'autres études n'ayant observé aucune association pourraient impliquer des concentrations situées au milieu de la courbe (comme l'étude par Skaaby et al. [279]). Toutefois, ce point reste à éclaircir puisque certaines études menées dans des populations présentant des concentrations élevées en 25(OH)D n'ont également observé aucune association [280, 281] et d'autres ont observé une augmentation de risque avec des concentrations relativement basses [282]. Ainsi, il serait nécessaire de réaliser d'autres études prenant en compte la distribution des concentrations en 25(OH)D dans la population étudiée et la position de cette distribution sur la potentielle « courbe en U ». De plus, de larges fluctuations saisonnières du statut en vitamine D pourrait également contribuer à expliquer l'association directe avec le risque de cancer de la prostate observée dans certaines études [264], ce qui ajoute un degré de complexité supplémentaire dans l'étude de cette association. Dans la cohorte SU.VI.MAX (voir la Partie 1. II. et **Tableau 31**), les fluctuations saisonnières du statut en vitamine D étaient modérées avec les plus faibles statuts en vitamine D observés en fin d'hiver/début de printemps (jours plus courts), ce qui a déjà été observé précédemment en France [68] et dans d'autres pays comme les USA [5, 77, 228].

Le rôle potentiellement protecteur de la vitamine D vis-à-vis du risque de cancer de la prostate observé dans notre étude est supporté par des hypothèses mécanistiques. En effet, les cellules de

la prostate peuvent exprimer l'enzyme de conversion de la 25(OH)D en 1,25(OH)₂D et le récepteur à la vitamine D [155] permettant ainsi à la vitamine D d'exercer son possible rôle dans la régulation cellulaire (pro-différenciation, pro-apoptose, anti-prolifération, contrôle de la croissance cellulaire) [118, 156, 157].

Jusqu'à présent, de potentielles différences d'effet de la vitamine D en fonction du stade et grade du cancer de la prostate restent incertaines. La méta-analyse du WCRF [158] n'a en effet montré aucune différence entre les cancers de la prostate de type avancé/haut grade et non-avancé/faible grade (résultats non significatifs pour les deux types) et une étude récente menée par Kristal et al. [277] a montré une diminution de risque de cancer de la prostate peu importe le score de Gleason.

Le fait qu'aucune association n'ait été observée entre les 10 SNPs étudiés dans notre étude et le risque de cancer de la prostate ne semble pas, à première vue, corroborer le rôle potentiellement protecteur de la vitamine D dans la carcinogenèse prostatique suggéré par nos résultats sur la concentration en 25(OH)D. Cependant, dans cette étude, la puissance statistique était limitée dans les analyses génétiques, en particulier pour les génotypes « homozygote muté ». Ceci pourrait donc expliquer l'absence d'association. De manière cohérente, plusieurs méta-analyses [159-161] et une étude prospective récente [162] n'ont observé aucune association entre les polymorphismes *VDR* BsmI, FokI et Cdx2 et le risque de cancer de la prostate. Une autre étude (non incluse dans les méta-analyses) a observé une augmentation de risque de cancer de la prostate associée au génotype *VDR* BsmI GG chez les hommes appartenant au premier tertile de concentration plasmatique en 25(OH)D [127]. Les études épidémiologiques s'étant intéressées à d'autres polymorphismes génétiques sont plus rares. Une étude [162] a observé une augmentation de risque de cancer de la prostate associée aux allèles *GC* rs4588 T et *GC* rs7041 A. Dans la cohorte SU.VI.MAX (voir Partie 1. II.), ces allèles étaient associés à un plus faible statut en vitamine D. Une autre étude [164] a observé une diminution de risque de cancer de la prostate fatal associée au polymorphisme *CaSR* rs1801725 chez les hommes présentant une faible concentration en 25(OH)D. A notre connaissance, aucune étude n'a investigué les autres SNPs sélectionnés dans notre étude (*CYP24A1* rs4809958, *RXR* rs7861779 et rs12004589, et *CaSR* rs4678174) en lien avec le risque de cancer de la prostate. Par ailleurs, d'autres SNPs de gènes impliqués dans le métabolisme de la vitamine D que ceux étudiés ici pourraient également être impliqués dans la carcinogenèse de la prostate, comme observé dans l'étude menée par Mondul et al. [163] et méritent de plus amples recherches.

La concentration plasmatique en PTH n'était pas associée au risque de cancer de la prostate dans notre étude. A notre connaissance, notre étude était seulement la deuxième à investiguer cette association, la première étude n'ayant observé aucune association [166]. Dans la Partie 1. IV., nous avons observé une corrélation inverse entre les concentrations en 25(OH)D et PTH avec une valeur seuil pour la PTH lorsque la concentration en vitamine D était autour de 30ng/ml. Ainsi, on peut s'attendre à une diminution de la concentration en PTH lorsque la concentration en 25(OH)D augmente. Les données mécanistiques sont incertaines quant au rôle potentiel de la PTH dans la carcinogenèse de la prostate. Alors que certaines données suggèrent un rôle pro-carcinogène de la PTH [283-285] (activité potentiellement mitogène dans des lésions paranéoplasiques), d'autres suggèrent au contraire un rôle potentiellement protecteur. En effet, une concentration élevée en PTH pourrait diminuer la sécrétion d'hormones de croissance, diminuant ainsi la concentration circulante en insulin-like growth factor-1 (IGF-1) [286, 287] ; l'IGF-1 étant considéré comme un facteur de risque potentiel pour le cancer de la prostate [288, 289]. Ainsi, de plus amples études

sont nécessaires pour investiguer la relation entre la concentration en PTH et le risque de cancer de la prostate.

Dans cette étude prospective, l'association entre la vitamine D et le risque de cancer de la prostate a été étudiée à travers la concentration plasmatique en 25(OH)D et différents polymorphismes de gènes impliqués dans le métabolisme de la vitamine D.

Nos résultats montrent que, pour des concentrations en 25(OH)D faibles à modérées telles qu'observées dans la cohorte SU.VI.MAX, le risque de cancer de la prostate était inversement associé avec le statut en vitamine D.

III. Vitamine D et risque de cancers liés au tabac

Deschasaux M, Souberbielle JC, Latino-Martel P, Sutton A, Charnaux N, Druesne-Pecollo N, Galan P, Hercberg S, Le Clerc S, Kesse-Guyot E, Ezzedine K, Touvier M. Prospective associations between vitamin D status, vitamin D-related gene polymorphisms, and risk of tobacco-related cancers. **Am J Clin Nutr.** 2015 Nov; **102(5):1207-15.**

L'article issu de ces résultats est présenté en **Annexe 7**.

A) Population d'étude

Dans cette étude, nous avons défini les cancers liés au tabac comme l'ensemble des localisations de cancer pour lesquelles une association avec le tabagisme a été établie avec un niveau de preuve suffisant selon le CIRC/IARC [168]. Dans la cohorte SU.VI.MAX, 209 cas de cancers liés au tabac ont ainsi été diagnostiqués au cours du suivi (1994-2007), en prenant en compte les localisations suivantes : poumon (N=32), cavité orale (N=9), pharynx (N=2), larynx (N=6), œsophage (N=9), pancréas (N=14), vessie (N=12), uretère (N=1), rein (N=15), sinus nasaux (N=2), estomac (N=4), foie (N=4), col de l'utérus (N=24), ovaire (N=15), leucémie myéloïde (N=4), côlon-rectum (N=52) et anus (N=4). Ces cas ont été appariés à 418 témoins. L'âge moyen au diagnostic était de 57,7 ans et le temps moyen entre l'inclusion et le diagnostic était de 6,3 ans.

B) Analyses statistiques

Les associations entre la concentration plasmatique en 25(OH)D, les apports alimentaires en vitamine D, les 10 SNPs sélectionnés et le risque de cancers liés au tabac ont été étudiées à l'aide de modèles de régression logistique conditionnelle multivariés. Tous les modèles étaient conditionnels sauf les modèles utilisés pour les analyses stratifiées et les analyses génétiques.

Les participants étaient appariés sur le sexe, l'âge à l'inclusion, le groupe d'intervention de l'essai SU.VI.MAX, la saison de prélèvement, le statut ménopausique (femmes), et l'utilisation de THM (femmes). Les modèles étaient en sus ajustés sur les niveaux d'éducation et d'activité physique, la consommation d'alcool, le tabagisme, la taille, l'IMC et les antécédents familiaux de cancer. Les modèles utilisés dans les analyses SNPs étaient également ajustés sur la concentration plasmatique en 25(OH)D.

Des ajustements supplémentaires ont été testés sur les apports énergétiques (sans alcool) ou sur la catégorie socioprofessionnelle.

Pour tous les modèles incluant des données alimentaires, seuls les participants ayant fourni au moins 3 enregistrements de 24h valides au cours des deux premières années étaient inclus.

La concentration plasmatique en 25(OH)D a été codée en utilisant le seuil de « statut optimal » (30ng/ml). Les sujets ont été classés en 5 catégories selon leur statut tabagique à l'inclusion : non-fumeurs, ex-fumeurs avec une consommation passée ≤ 10 ou > 10 cigarettes par jour, fumeurs avec une consommation ≤ 10 ou > 10 cigarettes par jour. Les SNPs ont été étudiés selon 3 modalités : codominant, dominant et récessif.

Une variable combinant statut tabagique (non-fumeurs / (ex-)fumeurs) et statut en vitamine D (< 30 / ≥ 30 ng/ml) a également été construite. Un test de tendance linéaire sur les 4 catégories a alors été réalisé en utilisant la valeur ordinale de cette variable combinée : (1) 25OHD < 30 ng/ml et

(ex-)fumeurs, (2) 25OHD ≥ 30 ng/ml et (ex-)fumeurs, (3) 25OHD < 30 ng/ml et non-fumeurs, (4) 25OHD ≥ 30 ng/ml et non-fumeurs.

Des interactions deux à deux ont été testées entre la concentration plasmatique en 25(OH)D, les 10 SNPs et le statut tabagique. Les analyses stratifiées correspondantes ont été réalisées.

C) Résultats

La **Tableau 34** regroupe les caractéristiques des cas et des témoins. Comparés aux témoins les cas étaient plus susceptibles de fumer, d'être obèses, d'avoir des apports alimentaires moindres en vitamine D et de posséder l'allèle T (génotypes CT et TT) du polymorphisme *RXR* rs7861779.

Tableau 34 Caractéristiques à l'inclusion des cas de cancers liés au tabac et de leurs témoins¹, cohorte SU.VI.MAX, France (1994-2007)

	Cas de cancers liés au tabac (N=209)			Témoins (N=418)			P
	N	%	Moy \pm SD	N	%	Moy \pm SD	
Age (années)			51,4 \pm 6,2			51,2 \pm 6,4	0,6
Sexe							1
Hommes	106	50,7		212	50,7		
Femmes	103	49,3		206	49,3		
Indice de Masse Corporelle (IMC, kg/m ²)			24,7 \pm 4,2			24,2 \pm 3,4	0,09
Distribution de l'IMC							0,02
<18,5kg/m ² (sous-poids)	8	3,8		8	1,9		
$\geq 18.5 - < 25$ kg/m ² (poids normal)	113	54,1		257	61,5		
$\geq 25 - < 30$ kg/m ² (surpoids)	64	30,6		130	31,1		
≥ 30 kg/m ² (obésité)	24	11,5		23	5,5		
Taille (cm)			167,9 \pm 8,0			167,4 \pm 8,4	0,5
Groupe d'intervention de l'essai SU.VI.MAX							1
Antioxydants	105	50,2		210	50,2		
Placebo	104	49,8		208	49,8		
Statut tabagique							<,0001
Non-fumeurs	73	34,9		193	46,2		
Ex-fumeurs (≤ 10 cigarettes/jour)	29	13,9		61	14,6		
Ex-fumeurs (> 10 cigarettes/jour)	54	25,8		114	27,3		
Fumeurs (≤ 10 cigarettes/jour)	15	7,2		31	7,4		
Fumeurs (> 10 cigarettes/jour)	38	18,2		19	4,5		
Activité physique							0,5
Irrégulière	45	21,5		108	25,8		
<1h/jour d'équivalent marche	67	32,1		121	29,0		
≥ 1 h/jour d'équivalent marche	97	46,4		189	45,2		
Niveau d'étude							0,3
Primaire	39	18,7		91	21,8		
Secondaire	90	43,1		152	36,3		
Supérieur	80	38,3		175	41,9		
Antécédents familiaux de cancer (oui) ²	75	35,9		155	37,1		0,8
Consommation d'alcool (g/jour)			22,6 \pm 25,0			19,5 \pm 20,5	0,09
Apports énergétiques (sans alcool, kcal/jour) ³			1919,5 \pm 553,3			2019,1 \pm 562,7	0,05
Apports alimentaires en vitamine D (μ g/jour) ³			2,6 \pm 1,7			3,1 \pm 2,3	0,03
Concentration plasmatique en 25(OH)D (ng/ml)			20,4 \pm 10,5			21,0 \pm 11,3	0,5
Période de prélèvement							0,8
Octobre-Novembre	40	19,1		79	18,9		
Décembre-Janvier	59	28,2		134	32,1		
Février-Mars	84	40,2		156	37,3		
Avril-Mai	26	12,5		49	11,7		
VDR Bsm1 rs1544410 ⁴							0,2

CC (WT)	69	36,3	150	38,2	
CT (HT)	96	50,5	171	43,5	
TT (MT)	25	13,2	72	18,3	
<i>VDR</i> FokI rs2228570 ⁴					0,08
GG (WT)	69	32,5	168	40,9	
AG (HT)	98	50,5	193	46,9	
AA (MT)	33	17,0	50	12,2	
<i>VDR</i> Cdx2 rs11568820 ⁴					0,2
CC (WT)	108	55,1	221	54,8	
CT (HT)	83	42,3	159	39,5	
TT (MT)	5	2,6	23	5,7	
<i>CYP24A1</i> rs4809958 ⁴					0,8
GG (WT)	132	69,8	285	70,7	
GT (HT)	51	27,0	109	27,1	
TT (MT)	6	3,2	9	2,2	
<i>GC</i> rs4588 ⁴					0,5
GG (WT)	100	50,2	198	49,0	
GT (HT)	77	38,7	171	42,3	
TT (MT)	22	11,1	35	8,7	
<i>GC</i> rs7041 ⁴					0,5
AA (WT)	42	21,2	72	17,5	
AC (HT)	92	46,5	208	50,5	
CC (MT)	64	32,3	132	32,0	
<i>RXR</i> rs7861779 ⁴					0,04
CC (WT)	136	68,3	307	77,7	
CT (HT)	58	29,2	82	20,8	
TT (MT)	5	2,5	6	1,5	
<i>RXR</i> rs12004589 ⁴					0,6
GG (WT)	149	76,4	317	78,7	
GT (HT)	45	23,1	82	20,3	
TT (MT)	1	0,5	4	1,0	
<i>CASR</i> rs1801725 ⁴					0,8
GG (WT)	140	70,7	292	71,4	
GT (HT)	53	26,8	103	25,2	
TT (MT)	5	2,5	14	3,4	
<i>CASR</i> rs4678174 ⁴					0,3
TT (WT)	98	51,3	184	46,4	
CT (HT)	81	42,4	174	43,8	
CC (MT)	12	6,3	39	9,8	

¹ Cancers liés au tabac : poumon, cavité orale, pharynx, larynx, œsophage, pancréas, vessie, uretère, rein, sinus nasaux, estomac, foie, col de l'utérus, ovaire, leucémie myéloïde, colon-rectum et anus

² Parmi les proches au premier degré.

³ Moyenne des apports alimentaires déclarés sur l'ensemble des enregistrements alimentaires de 24h des deux premières années du suivi, données disponibles pour 418 témoins et 168 cas.

⁴ Données manquantes : 44 (rs1544410), 22 (rs2228570), 28 (rs11568820), 35 (rs4809958), 24 (rs4588), 17 (rs7041), 33 (rs7861779), 29 (rs12004589), 20 (rs1801725), 39 (rs4678174).

25(OH)D, 25-hydroxyvitamine D ; WT, homozygote sauvage ; HT, hétérozygote ; MT, homozygote muté ; SD, écart-type ; SU.VI.MAX, Supplémentation en Vitamines et Minéraux Antioxydants.

Une concentration plasmatique en 25(OH)D ≥ 30 ng/ml était associée à une diminution de risque de cancers liés au tabac (**Tableau 35**, OR ≥ 30 vs. < 30 ng/ml=0,59 (0,35-0,99), P=0,046). Cette association était observée chez les fumeurs (ex ou actuels) (OR ≥ 30 vs. < 30 ng/ml=0,43 (0,23-0,84), P=0,01) mais pas chez les non-fumeurs (OR ≥ 30 vs. < 30 ng/ml=1,01 (0,50-2,42), P=0,8). Toutefois, le P du test d'interaction entre le statut en vitamine D et le tabagisme n'était pas significatif (P-interaction=0,2).

Tableau 35 Associations entre la concentration plasmatique en 25(OH)D et le risque de cancers liés au tabac au global et en fonction du statut tabagique¹, régression logistique², cohorte SU.VI.MAX, France (1994-2007)

25(OH)D	<30ng/ml		≥30ng/ml	
	OR	OR	IC 95%	P
Global				
cas/témoins	182/335	27/83		
	1,00	0,59	0,35-0,99	0,046
Non-fumeurs ³				
cas/témoins	62/163	11/30		
	1,00	1,10	0,50-2,42	0,8
Fumeurs ³				
cas/témoins	120/172	16/53		
	1,00	0,43	0,23-0,84	0,01

¹ Cancers liés au tabac : poumon, cavité orale, pharynx, larynx, œsophage, pancréas, vessie, uretère, rein, sinus nasaux, estomac, foie, col de l'utérus, ovaire, leucémie myéloïde, colon-rectum et anus.

² Les participants étaient appariés sur le sexe, l'âge à l'inclusion [<40/40-44/45-49/50-54/55-65 ans], le groupe d'intervention de l'essai SU.VI.MAX [Antioxydants/Placebo], la période de prélèvement [Octobre-Novembre/Décembre-Janvier/ Février-Mars/ Avril-Mai], la prise de THM à l'inclusion [oui/non], le statut ménopausique à l'inclusion [non ménopausée/ménopausée]. Les modèles de régression logistique étaient également ajustés sur le niveau d'éducation [primaire/secondaire/supérieur], la pratique d'activité physique [irrégulière /<1h/jour d'équivalent marche /≥1h/jour d'équivalent marche], la consommation d'alcool [g/jour, continu], le statut tabagique [non-fumeurs /ex-fumeurs ≤10 cigarettes par jour /ex-fumeurs >10 cigarettes par jour /fumeurs ≤10 cigarettes par jour /fumeurs >10 cigarettes par jour], la taille [cm, continu], l'IMC [kg/m², continu] et les antécédents familiaux de cancer [oui/non].

³ P du test d'interaction entre la concentration plasmatique en 25(OH)D (< /≥30ng/ml) et le statut tabagique (non-fumeurs/fumeurs [actuels et anciens fumeurs])=0,2.

25(OH)D, 25-hydroxyvitamine D ; SU.VI.MAX, Supplémentation en Vitamines et Minéraux Antioxydants ; THM, traitement hormonal de la ménopause.

Les résultats étaient similaires après exclusion des cas de cancers colorectaux (N=52), représentant 24,9% des cas de cancers liés au tabac dans cette étude, bien que la P-value n'atteignait pas le seuil de significativité du fait de la perte de puissance statistique (tous, OR ≥30 vs. <30ng/ml=0,56 (0,30-1,05), P=0,07 ; (ex-)fumeurs, OR ≥30 vs. <30ng/ml=0,48 (0,23-1,00), P=0,05 ; non-fumeurs, P=0,6 ; données non tabulées).

Les résultats étaient également similaires lorsque les modèles étaient ajustés sur l'apport énergétique ou sur la catégorie socioprofessionnelle [données non présentées].

En utilisant la variable combinant statut tabagique et statut en vitamine D, nous avons observé que, comparés aux fumeurs avec une concentration en 25(OH)D <30ng/ml (référence), le risque le plus faible de cancers liés au tabac étaient observés chez les non-fumeurs avec une concentration en 25(OH)D ≥30ng/ml (OR=0,13 (0,05-0,35)), avec un P de tendance de 0,046 sur les 4 catégories. Ce résultat était similaire après exclusion des cas de cancers colorectaux (OR=0,09 (0,03-0,29), P-trend=0,07).

Les associations entre les 10 SNPs et le risque de cancers liés au tabac sont présentés dans la **Tableau 36**. Le génotype *VDR* FokI AA (OR MT vs. WT=1,87 (1,08-3,23), P-trend=0,02) ainsi que le génotype *RXR* rs7861779 TT (OR HT+MT vs. WT=1,60 (1,07-2,38), P=0,02) étaient associés à une augmentation de risque de cancers liés au tabac. Aucune association n'était observée avec les autres SNPs étudiés. Des résultats similaires ont été observés après exclusion des cas de cancers colorectaux (*VDR* FokI, OR MT vs. WT=1,99 (1,04-3,83), P-trend=0,02 ; *RXR* rs7861779, OR HT+MT vs. WT=1,64 (1,02-2,64), P=0,04). Aucune interaction n'a été détectée entre les SNPs et le statut en vitamine D ou le statut tabagique.

Tableau 36 Associations entre 10 polymorphismes de gènes impliqués dans le métabolisme de la vitamine D et le risque de cancers liés au tabac¹, régression logistique², cohorte SU.VI.MAX, France (1994-2007)

SNPs	Codominant						Dominant				Récessif			
	WT	HT	MT		P-trend	WT	HT+MT		P	WT+HT	MT		P	
	OR	OR	IC95%	OR		IC95%	OR	OR		IC95%	OR	OR		IC95%
VDR BsmI rs1544410														
cas/témoins ³	69/150	96/171		25/72		69/150	121/243			165/321	25/72			
	1,00	1,15	0,77-1,70	0,73	0,42-1,27	0,5	1,00	1,02	0,71-1,49	0,9	1,00	0,67	0,40-1,12	0,1
VDR FokI rs2228570														
cas/témoins ³	63/168	98/193		33/50		63/168	131/243			161/361	33/50			
	1,00	1,42	0,96-2,10	1,87	1,08-3,23	0,02	1,00	1,51	1,04-2,19	0,03	1,00	1,53	0,93-2,51	0,09
VDR Cdx2 rs11568820														
cas/témoins ³	108/221	83/159		5/23		108/221	88/182			191/380	5/23			
	1,00	1,04	0,72-1,50	0,46	0,16-1,28	0,5	1,00	0,97	0,68-1,38	0,9	1,00	0,45	0,16-1,24	0,1
CYP24A1 rs4809958														
cas/témoins ³	132/285	51/109		6/9		132/285	57/118			183/394	6/9			
	1,00	1,01	0,67-1,52	1,33	0,44-4,00	0,8	1,00	1,03	0,70-1,53	0,9	1,00	1,33	0,45-3,97	0,6
GC rs4588														
cas/témoins ³	100/198	77/171		22/35		100/198	99/206			177/369	22/35			
	1,00	0,84	0,57-1,22	1,17	0,63-2,16	0,9	1,00	0,89	0,63-1,27	0,5	1,00	1,27	0,71-2,29	0,4
GC rs7041														
cas/témoins ³	42/72	92/208		64/132		42/72	156/340			134/280	64/132			
	1,00	0,80	0,50-1,28	0,91	0,55-1,51	0,8	1,00	0,84	0,54-1,31	0,4	1,00	1,07	0,73-1,56	0,7
RXR rs7861779														
cas/témoins ³	136/307	58/82		5/6		136/307	63/88			194/389	5/6			
	1,00	1,60	1,06-2,41	1,61	0,45-5,76	0,03	1,00	1,60	1,07-2,38	0,02	1,00	1,43	0,40-5,08	0,6
RXR rs12004589														
cas/témoins ³	149/317	45/82		1/4		149/317	46/86			194/399	1/4			
	1,00	1,22	0,80-1,86	0,52	0,06-4,84	0,5	1,00	1,18	0,78-1,80	0,4	1,00	0,49	0,05-4,61	0,5
CASR rs1801725														
cas/témoins ³	140/292	53/103		5/14		140/292	58/117			193/395	5/14			
	1,00	1,07	0,72-1,60	0,85	0,29-2,50	0,9	1,00	1,05	0,71-1,55	0,8	1,00	0,83	0,29-2,43	0,7
CASR rs4678174														
cas/témoins ³	98/184	81/174		12/39		98/184	93/213			179/358	12/39			
	1,00	0,91	0,62-1,32	0,56	0,27-1,21	0,2	1,00	0,84	0,59-1,21	0,3	1,00	0,59	0,29-1,17	0,1

¹ Cancers liés au tabac : poumon, cavité orale, pharynx, larynx, œsophage, pancréas, vessie, uretère, rein, sinus nasaux, estomac, foie, col de l'utérus, ovaire, leucémie myéloïde, colon-rectum et anus.

² Les participants étaient appariés sur le sexe, l'âge à l'inclusion, le groupe d'intervention de l'essai SU.VI.MAX, la période de prélèvement, la prise de THM à l'inclusion, le statut ménopausique à l'inclusion. Les modèles de régression logistique étaient également ajustés sur la concentration plasmatique en 25(OH)D, le niveau d'éducation [primaire/secondaire/supérieur], la pratique d'activité physique [irrégulière /<1h/jour d'équivalent marche /≥1h/jour d'équivalent marche], la consommation d'alcool [g/jour, continu], le statut tabagique [non-fumeurs /ex-fumeurs /fumeurs], la taille [cm, continu], l'IMC [kg/m², continu] et les antécédents familiaux de cancer [oui/non].

³ Données manquantes : 44 (rs1544410), 22 (rs2228570), 28 (rs11568820), 35 (rs4809958), 24 (rs4588), 17 (rs7041), 33 (rs7861779), 29 (rs12004589), 20 (rs1801725), 39 (rs4678174) 25(OH)D, 25-hydroxyvitamine D ; WT, homozygote sauvage ; HT, hétérozygote ; MT, homozygote muté ; SU.VI.MAX, Supplémentation en Vitamines et Minéraux Antioxydants ; THM, traitement hormonal de la ménopause.

D) Discussion et mise en regard de la littérature

Dans cette étude cas-témoin nichée, un statut plus élevé en vitamine D ($\geq 30\text{ng/ml}$) était inversement associé au risque de cancers liés au tabac, en particulier chez les fumeurs. Deux polymorphismes de gènes impliqués dans le métabolisme de la vitamine D (*VDR* FokI allèle A et *RXR* rs7861779 allèle T) étaient directement associés au risque de cancers liés au tabac.

A notre connaissance, une seule étude récente a investigué une association potentielle entre le statut en vitamine D et le risque de cancers liés au tabac [173]. Ses résultats sont cohérents avec ceux obtenus dans notre étude, à savoir une augmentation de risque de cancers liés au tabac associée à un statut plus faible en vitamine D, en particulier observée chez les fumeurs. Nos résultats sont également cohérents avec des études menées séparément sur différentes localisations de cancers liés au tabac et ayant observé une association inverse entre ces cancers et le statut en vitamine D, modulée par le statut tabagique [178, 185]. Zheng et al. [185] ont en effet observé une diminution de risque d'adénome colorectal associée à un statut plus élevé en vitamine D chez les fumeurs uniquement et Amaral et al. [178] ont observé une augmentation de risque de cancer de la vessie associée à un plus faible statut en vitamine D chez les fumeurs uniquement. Ces résultats suggèrent que la vitamine D pourrait contribuer à prévenir les cancers liés au tabac, ce qui est en accord avec des données expérimentales. Le tabagisme est un facteur de risque majeur connu pour plusieurs localisations de cancers via la libération de carcinogènes [167]. Plusieurs études expérimentales ont montré que la vitamine D pourrait être impliquée dans la prévention des tumeurs chimio-induites et en particulier des tumeurs induites par les carcinogènes du tabac [119, 170-172]. En effet, la vitamine D régulerait d'une part le processus d'apoptose permettant ainsi une meilleure suppression des cellules endommagées par les carcinogènes et limitant la progression tumorale [118, 290], serait d'autre part un facteur de détoxification [291] et enfin permettrait de réduire la susceptibilité des cellules vis-à-vis des carcinogènes [290].

D'un point de vue de santé publique, nos résultats liés à la variable combinant statut en vitamine D et statut tabagique indiquent que le risque maximal de cancers liés au tabac est observé chez les fumeurs, en particulier si leur statut en vitamine D est inférieur à 30ng/ml .

A notre connaissance, notre étude était la première à investiguer une association entre différents SNPs de gènes impliqués dans le métabolisme de la vitamine D et le risque de cancers liés au tabac. Les résultats des études épidémiologiques portant sur la relation entre le polymorphisme *VDR* FokI et différentes localisations de cancers liés au tabac sont contrastés. Dans notre étude, nous avons observé une augmentation de risque de cancer associée à l'allèle A (f) (comparé à l'allèle G (F)), ce qui est en accord avec des études ayant observé une association directe entre l'allèle f et une augmentation de risque de cancer du côlon [292] ou de cancer du foie chez des sujets porteurs du virus de l'hépatite B [188]. Au contraire, d'autres études ont montré soit une association entre ce même allèle et une diminution de risque de cancers de la tête et du cou [293] ou du poumon [294] soit aucune association avec le risque de cancer colorectal [174, 186], de cancer du rein [187] ou de la vessie [191]. Nos résultats sont néanmoins supportés par des études expérimentales ayant montré que l'allèle f du *VDR* FokI conduirait à la synthèse d'une forme plus longue de la protéine (récepteur à la vitamine D, VDR), entraînant une interaction moins efficace entre le VDR et les facteurs de transcription et donc une activité moindre de la vitamine D [120, 295]. Ceci, associé au fait que la vitamine D pourrait jouer un rôle protecteur vis-à-vis du risque de cancers liés au tabac, est donc cohérent avec l'augmentation de risque associée à cet allèle observée dans notre étude.

Dans la littérature, il existe très peu d'information sur le *RXR* rs7861779 pour lequel nous avons observé une association positive entre l'allèle T et le risque de cancers liés au tabac. Une étude a précédemment observé une augmentation de risque de cancer du côlon proximal associé à cet allèle [121]. Le *RXR* forme un hétérodimère avec le *VDR* permettant son interaction avec les gènes cibles [118]. On peut ainsi émettre l'hypothèse que l'allèle T du *RXR* rs7861779 conduirait à la synthèse d'une forme de *RXR* induisant un dimère *RXR-VDR* moins efficace et limitant ainsi l'activité de la vitamine D dans la prévention des cancers.

Aucune association n'a été observée avec les autres SNPs testés. La littérature disponible concernant la relation entre ces SNPs et différentes localisations de cancers liés au tabac est inégale et contrastée. La plupart des études s'intéressent aux *VDR* BsmI et Cdx2, en particulier en association avec le risque de cancer colorectal pour lequel une association inverse avec les allèles respectivement B et c a été observée [174, 186]. Peu d'études ont investigué ces SNPs du *VDR* avec d'autres localisations de cancer comme les cancers de la tête et du cou (aucune association) [189], du poumon (diminution de risque avec l'allèle A) [184] ou du rein (aucune association) [187] et de plus rares études ont investigué d'autres polymorphismes génétiques comme *GC* rs4588, *GC* rs7041, *CaSR* rs4678174, *CaSR* rs1801725, encore une fois le plus souvent en association avec le risque de cancer colorectal (aucune association) [121, 190, 296, 297].

En conclusion, cette étude prospective a observé une diminution de risque de cancers liés au tabac associé à des concentrations plasmatiques en 25(OH)D ≥ 30 ng/ml, en particulier chez les fumeurs. De manière cohérente, deux polymorphismes génétiques (allèle A du *VDR* FokI et allèle T du *RXR* rs7861779) induisant potentiellement une activité moindre de la vitamine D étaient associés à une augmentation de risque de cancers liés au tabac.

Nos résultats concernant le statut en vitamine D sont cohérents avec l'unique étude prospective s'étant intéressée aux cancers liés au tabac et, à notre connaissance, notre étude est la première à avoir investigué des polymorphismes de gènes liés à la vitamine D et le risque de cancers liés au tabac.

Bilan des parties 1 et 2 : forces, limites et résultats clés

I. Aspects méthodologiques et limites

A) Des spécificités liées aux populations d'étude

Les travaux descriptifs et étiologiques menés dans ces deux parties portaient sur des sous-échantillons des cohortes SU.VI.MAX (témoins seuls ou cas et témoins de l'étude cas-témoin nichée « vitamine D et cancer ») et NutriNet-Santé (participants ayant répondu au questionnaire « connaissances liées à la vitamine D » et/ou ayant une mesure de leur statut en vitamine D). Ces sous-échantillons présentent des spécificités (forces et limites) qui ont pu influencer les résultats obtenus.

Dans ces deux cohortes, de nombreuses données ont été collectées auprès des participants, notamment des données sociodémographiques, des informations liées au mode de vie, une estimation des consommations alimentaires usuelles établie à partir d'enregistrements de 24h répétés, des données biologiques (en particulier mesure des concentrations plasmatiques en 25(OH)D et PTH et génotypage pour 10 SNPs de gènes liés au métabolisme de la vitamine D), des informations liées au comportement vis-à-vis de l'exposition solaire et au phototype. Ceci nous a donc permis de caractériser finement les individus de notre population, de prendre en compte de nombreux facteurs de confusion potentiels et de tester des modifications d'effet selon ces caractéristiques individuelles.

De plus, la disponibilité de ces deux cohortes indépendantes permettait de réaliser une validation externe des résultats obtenus, en particulier dans le cadre du développement du score VDIP.

Par ailleurs, l'étude cas-témoin nichée mise en place au sein de la cohorte SU.VI.MAX a permis d'étudier le lien entre la vitamine D et le risque de différents cancers de manière prospective (mesure des concentrations plasmatiques en 25(OH)D réalisées à l'inclusion avant tout diagnostic de cancer) en bénéficiant d'une durée de suivi importante (jusqu'à 13 ans).

Les participants aux deux cohortes ont été recrutés au sein de la population générale, ce qui permettait d'obtenir des profils diversifiés. Toutefois, ces participants étaient des volontaires impliqués dans des études sur le long terme portant sur la nutrition et la santé. Ils ne sont donc pas totalement représentatifs de la population française dans son ensemble, avec en particulier, un niveau d'éducation et une catégorie socio-professionnelle plus élevés, une plus forte proportion de femmes (NutriNet-Santé) et un niveau de connaissances et/ou d'intérêt plus élevés pour les sujets liés à la nutrition et/ou la santé. En particulier, certains profils de participants n'étaient pas représentés dans ces cohortes. En effet, une grande majorité des participants étaient de type Caucasien et, dans la cohorte SU.VI.MAX, les femmes étaient âgées de plus de 35 ans et les hommes de plus de 45 ans (âge minimal de recrutement).

Ainsi, une prudente extrapolation des résultats, notamment descriptifs, doit être conduite en prenant en compte les éléments évoqués ci-dessus. En particulier, les résultats liés à l'évaluation des connaissances sur la vitamine D dans la cohorte NutriNet-Santé ont pu surestimer ces connaissances par rapport à l'ensemble de la population française. Néanmoins, dans cette étude, l'échantillon a été pondéré pour être représentatif de la population française du point de vue des caractéristiques sociodémographiques et économiques. D'autres études menées dans des

populations différentes sont donc nécessaires pour reproduire les résultats obtenus (ex. autres groupes ethniques, individus plus jeunes et plus âgés, autres pays).

Les concentrations plasmatiques en 25(OH)D étaient par ailleurs relativement basses dans les 2 échantillons (SU.VI.MAX : moyenne = $20,2 \pm 10,5$ ng/ml, 75^{ème} percentile = 25,6 ng/ml ; NutriNet-Santé : moyenne = $24,3 \pm 11,8$ ng/ml, 75^{ème} percentile = 31,9 ng/ml), en particulier dans SU.VI.MAX (probablement du fait d'une moyenne d'âge plus élevée par rapport à NutriNet-Santé). Nos conclusions sont ainsi restreintes à des concentrations de cette amplitude. Ceci est particulièrement important dans le cadre des analyses étiologiques étant donnée la potentielle « courbe en U » observée pour la relation entre le statut en vitamine D et le risque de cancer (notamment cancer de la prostate, voir Partie 2. II.). Néanmoins, les concentrations plasmatiques moyennes en 25(OH)D observées dans les 2 échantillons étaient proches de celle observée dans une étude représentative de la population française conduite en 2006-2007 (ENNS) sur des adultes âgés de 18ans et plus (23,2 ng/ml) [298].

La taille des échantillons disponibles dans les deux cohortes a permis de conduire de nombreuses analyses et ainsi de tester nos hypothèses. En effet, les échantillons utilisés dans les différentes études descriptives étaient de taille relativement importante, permettant de disposer d'une puissance statistique adéquate et de réaliser des analyses stratifiées selon différentes caractéristiques et, pour les analyses étiologiques (SU.VI.MAX), le nombre de cas diagnostiqués pour les différents cancers étudiés (cancers du sein : N=233, cancers de la prostate : N=129 et cancers liés au tabac : N=209) était approprié pour conduire les analyses principales. Toutefois, ce nombre de cas peut avoir limité la puissance statistique dans certaines analyses et ainsi notre capacité à détecter certaines associations, en particulier pour les analyses stratifiées en fonction de caractéristiques individuelles ou pour les analyses étudiant les polymorphismes génétiques (notamment lorsque le génotype « homozygote muté » était très peu fréquent dans l'échantillon). Cependant, le nombre limité de cas ne peut pas expliquer les associations observées dans ces travaux, qui étaient significatives en dépit de la puissance limitée. Ce nombre de cas a également limité notre capacité à réaliser des analyses séparées dans certains sous-groupes d'intérêt : analyses chez les femmes en surpoids et obèses, non-ménopausées ou présentant un cancer de type ER- (cancer du sein) ; analyses en fonction du grade de cancer (cancer de la prostate) ; analyses en fonction du statut tabagique considéré de manière plus fine (en particulier en différenciant les fumeurs actuels des ex-fumeurs ou en prenant en compte le nombre de cigarettes fumées par jour), analyses stratifiées simultanément sur le statut tabagique et sur d'autres caractéristiques comme le statut pondéral ou la consommation d'alcool (cancers liés au tabac) ; analyses en fonction des génotypes (tous les cancers étudiés).

A noter également que, dans la cohorte SU.VI.MAX, les principaux cancers diagnostiqués étaient les cancers du sein, de la prostate et du colon-rectum. Si le nombre de cas pour les deux premières localisations était suffisant pour conduire des analyses étiologiques, il était limité pour les autres localisations. Ainsi, pour les cancers liés au tabac, des analyses séparées par localisations n'étaient pas possibles. De plus, dans cette étude des cancers liés au tabac, les cas de cancers colorectaux étaient majoritaires. Etant donné que l'association inverse entre le statut en vitamine D et le risque de cancer colorectal est bien établie, elle pourrait avoir largement influencé l'association observée entre la vitamine D et le risque de cancers liés au tabac. Toutefois, tous nos résultats étaient similaires, bien qu'à la limite de la significativité, dans des analyses de sensibilité excluant les cas de cancers colorectaux. Ceci indique que bien que le cancer colorectal ait contribué à nos résultats, les associations observées ne sont pas entièrement expliquées par cette localisation.

B) Limites liées aux données collectées

Les travaux menés dans le cadre de cette thèse sont, comme tout type d'étude, dépendants des données collectées (en particulier des données non disponibles) et de la méthode de collecte.

1. Données non disponibles

Certaines données n'étaient pas disponibles dans nos cohortes en particulier certaines informations pertinentes dans le cadre d'études portant sur le statut en vitamine D et son association potentielle avec le risque de cancer. Ces données non disponibles peuvent avoir empêché l'étude de certains paramètres et hypothèses et avoir été une source de confusion résiduelle.

C'est le cas par exemple :

- De données sociodémographiques ou liées au mode de vie comme le type de vêtements habituellement portés par les individus (couvrant ou non) ou les doses et durées d'utilisation de THM et de contraception orale au cours de la vie (seulement utilisation à l'inclusion oui/non).
- De données biologiques ou cliniques :
 - Génotypes pour d'autres gènes pouvant influencer le statut en vitamine D, comme le *CYP2R1* ou le *NADSYN1* [76, 80-82, 299].
 - Concentration en calcium circulant : la mesure du statut en calcium aurait été utile d'une part pour étudier de potentiels PHPT (en particulier dans le cadre de l'étude portant sur les valeurs de référence pour la PTH). La prévalence de cette pathologie est toutefois en général plus importante (environ 2-3%) chez les femmes âgées de plus de 50 ans [300], représentant seulement 43% de l'échantillon SU.VI.MAX pris en compte dans cette étude. Le nombre de sujets présentant un PHPT était donc probablement très faible. D'autre part cette concentration en calcium aurait fourni des informations supplémentaires quant à la relation entre 25(OH)D, PTH, calcium et risque de cancer de la prostate. Les apports alimentaires en calcium étaient disponibles mais, lorsque ces apports se situent dans un ordre de grandeur normal, ils ne sont que faiblement corrélés à la concentration en calcium [301] (contrôle homéostatique).
 - Taux de créatinine : la connaissance du taux de créatinine aurait permis de détecter d'éventuelles insuffisances rénales. Cette information était néanmoins disponible pour un sous-échantillon de 274 sujets de l'étude SU.VI.MAX pour lesquels nous avons vérifié qu'aucun taux de filtration glomérulaire (formule issue de la Modification of Diet in Renal Disease) n'était ≤ 60 ml/min pour $1,73\text{m}^2$. De plus, 3 sujets ayant auto-déclaré une insuffisance rénale diagnostiquée par un médecin (question posée à l'ensemble de la cohorte) ont été exclus des différentes études descriptives portant sur la cohorte SU.VI.MAX.
 - Densité mammaire ou quantité de tissu adipeux au niveau mammaire : dans l'étude portant sur le lien entre la vitamine D et le risque de cancer du sein, nous avons mis en évidence une augmentation de risque de cancer du sein chez les femmes avec un IMC plus élevé. Les hypothèses émises pour l'expliquer ont conduit à utiliser l'IMC comme proxy de la quantité de tissu adipeux présent au niveau mammaire, alors que la corrélation entre les deux n'est pas parfaite. Ainsi, ces informations auraient permis de préciser nos hypothèses.

Par ailleurs, les événements de santé hors cancers et pathologies cardiovasculaires n'ont pas tous été validés, ce qui a ainsi limité la possibilité de réaliser des analyses de sensibilité en excluant des sujets présentant par exemple certaines maladies auto-immunes.

2. Données manquantes

Certaines données collectées étaient parfois manquantes pour les individus. La stratégie adoptée pour gérer ces données manquantes était d'imputer à la valeur modale si la proportion de données manquantes représentait moins de 5% de l'échantillon (donc un faible impact potentiel au global sur la totalité des données). Cependant, dans le cadre de la validation du score VDIP dans l'échantillon NutriNet-Santé, certaines données étaient manquantes dans une proportion supérieure à 5%, en particulier l'exposition solaire, le phototype de Fitzpatrick et l'activité physique. Dans ce cas, une classe de « manquants » a été introduite dans les modèles statistiques utilisés afin de conserver les individus concernés. Toutefois, étant donné qu'aucun point n'était accordé aux données manquantes, il est possible que cela ait conduit à des erreurs de classification et donc à une diminution des performances du score. Des analyses de sensibilité ont cependant été conduites en excluant les participants présentant des données manquantes (résultats similaires mais perte de puissance statistique dans les analyses).

3. Format des questionnaires

La structure des questionnaires permettant de collecter les données d'intérêt est cruciale car elle va déterminer le type de réponses obtenues et la compréhension des questions par les participants.

En particulier, le questionnaire portant sur les connaissances liées à la vitamine D posé dans le cadre de l'étude NutriNet-Santé était un questionnaire à choix multiples sans possibilité de réponse libre, du fait du grand nombre de sujets auxquels il était adressé (plusieurs dizaines de milliers). Ce type de questionnaire à réponses « guidées » peut donc conduire à un biais de connaissances a posteriori et donc à une surestimation des connaissances [54, 63]. En outre, étant donné que les participants n'avaient pas la possibilité de répondre librement, certaines modalités non proposées n'ont pas pu être étudiées. Par exemple, pour ce qui est des sources d'information concernant la vitamine D, la réponse « Internet » n'était pas proposée alors que son importance comme source d'information sur la nutrition et la santé a été démontrée [302].

4. Mesure des concentrations plasmatiques en 25(OH)D et PTH

Dans les deux cohortes, les mesures des concentrations en 25(OH)D et PTH (SU.VI.MAX uniquement) n'ont pu être réalisées que sur un seul échantillon sanguin par individu. Si une seule mesure du statut en vitamine D peut être jugée satisfaisante pour refléter un statut moyen sur l'année et permettre des analyses étiologiques [228], des mesures répétées sur plusieurs saisons ou plusieurs années auraient pu présenter un intérêt certain pour étudier l'évolution de ces concentrations au cours du temps.

Les mesures de la concentration en 25(OH)D ont été réalisées avec la technique Roche Cobas d'électrochimiluminescence et non en utilisant la spectrométrie de masse. Par ailleurs, aucune information n'était disponible sur la VDBP. La méthode d'analyse utilisée a cependant été jugée fiable [303] mais devrait être définitivement calibrée avec une méthode de référence basée sur la dilution isotopique et la spectrométrie de masse [304].

La concentration en PTH a été mesurée par la technique Roche Cobas d'immunométrie électrochimiluminescente dans des échantillons de plasma obtenus en début de matinée après une nuit de jeûne. Ainsi, la concentration en PTH a été mesurée par un seul kit et dans une seule situation physiologique. Étant donnée l'importante variabilité existante entre les différents kits de dosage [104, 250, 258], l'étude des seuils de référence pour la PTH devrait être également

conduite en utilisant d'autres kits. Par ailleurs, la stabilité temporelle de la PTH conservée dans de l'azote liquide n'a pas été testée. L'azote liquide est toutefois considéré comme particulièrement approprié pour la cryopréservation des biofluides et tissus, les températures très basses inhibant fortement l'activité des enzymes. De plus, les concentrations en PTH et la valeur seuil de PTH en fonction du statut en vitamine D observées dans la Partie 1. IV. étaient cohérentes avec celles observées dans une précédente étude menée par Chapuy et al. [101] sur un autre échantillon issu de l'étude SU.VI.MAX. Dans cette étude, les concentrations en PTH avaient été mesurées entre 1995 et 1997 (20 ans plus tôt), ce qui suggère que la PTH est stable au cours du temps. Ceci devrait néanmoins être confirmé dans des études de validation *ad hoc*.

C) Causalité

Les différentes études menées dans le cadre de cette thèse étaient de type observationnelles. Ainsi, contrairement aux études d'intervention, ces études ne permettent pas d'affirmer de manière certaine que les associations observées sont effectivement causales et ne sont pas dues à un effet résiduel non mesuré. Certains éléments tendent toutefois à étayer la causalité des associations observées : design prospectif des études permettant d'établir une certaine temporalité, prise en compte de nombreux facteurs de confusion potentiels dans nos analyses (appariement et ajustement) pour limiter les biais de confusion résiduelle, plausibilité biologique des associations observées.

En outre, dans les études portant sur le lien entre le statut en vitamine D et le risque de cancer, les associations observées pourraient en partie être expliquées par un effet de causalité inversée. En effet, le développement du cancer peut se faire sur une période longue et il existe généralement un temps de latence pendant lequel un cancer est présent mais n'est pas encore diagnostiqué (notamment dans le cas du cancer de la prostate). Or, la présence sous-jacente d'un cancer peut influencer le fonctionnement de l'organisme et pourrait donc avoir un impact sur différents paramètres biologiques et notamment sur le statut en vitamine D. Une récente revue de la littérature a même émis l'hypothèse que le statut en vitamine D serait un marqueur de mauvaise santé (plus qu'une cause de pathologie) [305]. C'est pourquoi nous avons conduit des analyses excluant les cas de cancers diagnostiqués au début du suivi (deux premières années), individus pour qui le cancer était potentiellement déjà présent au moment de l'inclusion et donc de la prise de sang. Les analyses avec et sans exclusion de ces cas présentaient des résultats similaires.

D) Tests multiples

De nombreux tests ont été réalisés au cours des différents travaux présentés. On peut alors se demander si certains des résultats observés ne seraient pas liés au hasard. En effet, la multiplication des tests augmente le risque d'observer une association par hasard (erreur de Type I). Cependant, bien qu'ajuster sur les tests multiples permette de diminuer le risque d'erreur de Type I, cela augmente également le risque d'erreur de Type II (risque de « faux négatifs »), cet ajustement sur les tests multiples est donc débattu [306].

Par exemple, dans le cadre de l'étude des connaissances liées à la vitamine D, de nombreuses comparaisons ont été effectuées pour étudier l'influence de différentes caractéristiques individuelles sur ces connaissances. Ces comparaisons multiples ont été prises en compte en effectuant une correction de Bonferroni dans le cadre d'analyse de sensibilité. L'ensemble des résultats était conservé.

De même, dans le cadre de l'étude de l'association entre la vitamine D (statut et polymorphismes) et le risque de cancer du sein, de multiples analyses stratifiées ont été réalisées pour investiguer

les interactions significatives observées (modificateurs potentiels). Bien que les associations entre la concentration plasmatique en 25(OH)D et le risque de cancer du sein (au global et stratifiées par l'IMC et la consommation d'alcool) étaient globalement stables après avoir réalisé un ajustement sur les tests multiples, toutes les analyses exploratoires impliquant les SNPs (au global et stratifiées par l'IMC et la consommation d'alcool) n'étaient plus significatives. Toutefois, il est très peu probable que ces résultats soient uniquement le fait du hasard puisque ces résultats sont supportés par des données expérimentales et sont cohérents avec de précédentes études épidémiologiques. Les résultats sur le statut en 25(OH)D et sur les SNPs étaient par ailleurs très cohérents.

II. Résultats clés

A) Partie 1 – Vitamine D : connaissances et statut (aspects descriptifs)

Les travaux descriptifs menés dans le cadre de cette thèse révèlent que :

- Dans un contexte où la vitamine D suscite un intérêt marqué de la part du public et de la communauté scientifique et médicale, la quasi-totalité de notre échantillon (92%) avait déjà entendu parler de la vitamine D. Les principales sources d'information pour la vitamine D étaient les médecins et les médias. Si les sources de vitamine D n'étaient pas toujours citées (ex. exposition solaire : 72%, poissons gras : 61%), tout comme les effets santé établis de la vitamine D (santé osseuse : 62 à 78%), une certaine confusion a pu être observée puisque les participants ont également cité des sources incorrectes pour la vitamine D (ex. huile d'olive) et des effets santé pour lesquels un consensus n'est pas établi (ex. cancer de la peau, maladies psychiatriques), soulignant ainsi l'importance de fournir au public mais aussi aux professionnels de santé des éléments d'information sur la vitamine D. Globalement, de meilleures connaissances étaient observées chez les femmes, les individus ayant un niveau d'éducation plus élevé et les individus ayant un revenu plus élevé. Enfin, une importante incohérence a été observée entre ce que les individus pensent de leur statut en vitamine D et leur statut effectivement mesuré.
- Si certains des facteurs influençant le statut en vitamine D ne sont pas modifiables (sexe, âge, polymorphismes du gène *GC*), d'autres pourraient être modifiés (légère exposition solaire dans la vie quotidienne, pratique d'une activité physique, maintien d'un poids normal), et pourraient donc faire l'objet d'actions de santé publique visant à améliorer le statut en vitamine D de la population.
- Sur la base des déterminants du statut en vitamine D, il est possible d'identifier des adultes à risque d'insuffisance en vitamine D qui pourraient bénéficier d'une prise en charge en se basant sur un système de score simple (le VDIP) utilisant les informations suivantes : sexe, saison, lieu d'habitation, activité physique, exposition solaire, statut pondéral et phototype.
- Les seuils de référence pour les concentrations en PTH devraient prendre le compte le statut en vitamine D et d'autres facteurs modificateurs comme le statut pondéral et les apports en calcium et devraient ainsi être revus à la baisse, ce qui permettrait une meilleure détection de possibles hyperparathyroïdies.

Ces résultats fournissent donc des pistes pour formuler des recommandations en santé publique, visant notamment à améliorer le statut en vitamine D de la population.

B) Partie 2 – Vitamine D et risque de cancer (aspects étiologiques)

Les travaux étiologiques prospectifs menés dans le cadre de cette thèse suggèrent que :

- Un statut plus élevé en vitamine D (parmi des concentrations plasmatiques en 25(OH)D faibles à modérées telles qu’observées dans cette étude) pourrait être associé à une diminution de risque de cancers du sein, de la prostate et de cancers liés au tabac (notamment chez les fumeurs).
- Des facteurs individuels pourraient modifier les associations observées entre le statut en vitamine D et le risque de cancer du sein, pouvant contribuer à expliquer les résultats contrastés dans la littérature épidémiologique: un statut en vitamine D plus élevé était en effet associé à une diminution de risque de cancer du sein chez les femmes minces alors qu’il était associé à une augmentation de risque chez les femmes avec un IMC plus élevé. Il était également associé à une diminution de risque de cancer du sein chez les femmes avec des consommations d’alcool modérées à élevées, alors qu’aucune association n’a été observée chez celles avec de faibles consommations d’alcool.
- Les polymorphismes génétiques supportent les associations observées entre statut en vitamine D et risque de cancer :
 - Le polymorphisme *GC* rs4588 (allèle T, activité moindre de transport de la vitamine D) était associé à une augmentation de risque de cancer du sein, en particulier chez les femmes de poids normal et le polymorphisme *VDR* BsmI (allèle T, expression plus importante de la vitamine D) était quant à lui associé à une diminution de risque de cancer du sein chez les femmes avec un statut en vitamine D plus élevé et chez les femmes avec des consommations d’alcool modérées à élevées (plus à risque de cancer du sein).
 - Les polymorphismes *VDR* FokI et *RXR* rs7861779 (allèles A et T respectivement, expression moindre de la vitamine D) étaient associés à une augmentation de risque de cancers liés au tabac.

Ces résultats sont supportés par des données mécanistiques provenant d’études expérimentales et fournissent de nouvelles informations quant au rôle de la vitamine D dans la prévention des cancers et l’impact de potentiels facteurs modificateurs. Ces résultats nécessitent d’être reproduits et validés dans de futures larges études prospectives d’observation et d’intervention, afin d’accroître (ou d’infirmier) les niveaux de preuve des relations vitamine D – cancers. A terme, ils pourraient contribuer à améliorer les recommandations concernant la vitamine D.

Autres travaux étiologiques dans le cadre de la thématique nutrition - cancer

Dans le cadre de mon projet de poursuite de carrière de recherche en épidémiologie nutritionnelle sur la thématique nutrition-cancer et plus généralement sur les liens entre la nutrition et la santé, je me suis impliquée au cours de ma thèse dans d'autres travaux présentés brièvement ci-dessous.

I. Association entre un score reflétant la qualité globale de l'alimentation (FSA-NPS DI) et le risque de cancer du sein (cohorte NutriNet-Santé)

Deschasaux M, Julia C, Kesse-Guyot E, Gourlet V, Lécuyer L, Méjean C, Ducrot P, Péneau S, Latino-Martel P, Fezeu L, Fassier P, Hercberg S, Touvier M. Prospective association between an individual dietary index based on the British Food Standard Agency nutrient profiling system (FSA-NPS DI) and breast cancer risk: results from the NutriNet-Santé study. **Submitted.**

Ce travail s'inscrit dans une série d'analyses conduites au sein de l'EREN portant sur l'utilisation du FSA-NPS DI pour caractériser la qualité nutritionnelle globale de l'alimentation. Il fait notamment suite à l'article de Mathilde Donnenfeld au cours de son stage que j'ai co-encadré [307], portant sur l'association entre le FSA-NPS DI et le risque de cancer dans la cohorte SU.VI.MAX.

RÉSUMÉ

Introduction : En France (et en Europe), les autorités de santé considèrent la possibilité d'implémenter un système d'étiquetage simplifié à apposer en face avant des emballages des produits alimentaires afin d'aider les consommateurs à effectuer des choix alimentaires plus sains. Une des propositions actuellement à l'étude serait un logo à 5 couleurs, reflétant la qualité nutritionnelle du produit en se basant sur le système de profilage nutritionnel des aliments de la British Food Standard Agency (FSA-NPS) pour déterminer la couleur associée à chaque aliment/boisson. Au niveau individuel, un score (FSA-NPS DI) a été dérivé. Ce score validé correspond à la moyenne pondérée par l'apport énergétique de tous les scores FSA-NPS des aliments habituellement consommés par un individu, reflétant ainsi globalement la qualité nutritionnelle de son alimentation.

Afin d'évaluer le potentiel impact de l'utilisation de ce logo, différents travaux ont été conduits dans la cohorte SU.VI.MAX pour étudier la qualité nutritionnelle globale de l'alimentation telle qu'estimée par le FSA-NPS DI en association avec la prise de poids et le risque d'obésité, de syndrome métabolique, de maladies cardiovasculaires et de cancer. Nos résultats ont notamment montré qu'un FSA-NPS DI reflétant une moindre qualité nutritionnelle de l'alimentation était associé à une augmentation de risque de cancer au global, mais les résultats pour le cancer du sein n'étaient pas significatifs dans cette cohorte, probablement du fait d'un manque de puissance.

Ainsi, l'objectif de la présente étude était d'investiguer l'association entre le FSA-NPS DI (score reflétant la qualité nutritionnelle de l'alimentation) et le risque de cancer du sein dans la cohorte NutriNet-Santé (large population d'étude et données de consommation alimentaires récentes).

Méthodes : Cette étude a été conduite sur la cohorte NutriNet-Santé (2009-2015, voir la description de la cohorte). 46 864 femmes âgées de plus de 35 ans et ayant fourni au moins 3

enregistrements alimentaires de 24h au cours des deux premières années de suivi ont été incluses dans les analyses, parmi lesquelles 555 cas incidents de cancer du sein ont été diagnostiqués (suivi médian : 4,0 ans). Les associations entre le FSA-NPS DI (continu et quintiles) et le risque de cancer du sein ont été étudiées à l'aide de modèles de Cox multivariés.

Résultats : Un FSA-NPS DI plus élevé, reflétant une moindre qualité nutritionnelle de l'alimentation) était associé à une augmentation de risque de cancer du sein (RR pour 1 point d'incrément = 1,06 (1,02-1,11), P-trend=0,005 ; RR Q5 vs. Q1 = 1,52 (1,11-2,08), P-trend=0,002). Ces associations étaient similaires après exclusion des cas diagnostiqués au cours de la première année de suivi.

Conclusions : Dans cette étude, un FSA-NPS DI plus élevé était associé à une augmentation de risque de cancer du sein. Ces résultats suggèrent que des choix alimentaires de moindre qualité nutritionnelle pourraient conduire à une augmentation de risque de 52% (FSA-NPS DI $\geq 7,7$ (Q5) vs. $< 4,1$ (Q1)) et supportent ainsi le développement d'un système d'étiquetage nutritionnel basé sur ce système.

II. Apports alimentaires en fer et risque de cancer du sein – modulation par une supplémentation en antioxydants et par l'apport en lipides (cohorte SU.VI.MAX)

Ce travail a été coréalisé avec Abou Diallo dans le cadre de ma participation à l'encadrement de sa première année de thèse.

Deschasaux M*, Diallo A*, Partula V, Latino-Martel P, Hercberg S, Galan P, Fassier P, Guéraud F, Pierre FH, Touvier M (*equally contributed). Dietary iron and breast cancer risk – modulation by an antioxidant supplementation in the SU.VI.MAX randomized controlled trial. **Submitted.**

RÉSUMÉ

Introduction : Des études épidémiologiques ont suggéré que la consommation de viandes rouges et charcuteries pourrait être associée à une augmentation de risque de cancer du sein, faisant ainsi écho à leur récent classement comme « (probablement) carcinogène pour les humains » par le CIRC/IARC, basé principalement sur le risque de cancer colorectal. Des résultats expérimentaux ont par ailleurs suggéré que, parmi les composés pro-carcinogènes contenus dans les viandes rouges et les charcuteries, le fer (composé pro-oxydant) pourrait être particulièrement impliqué dans l'initiation de la carcinogenèse, notamment à travers un phénomène de peroxydation lipidique (stress oxydant). Ainsi, on pourrait émettre l'hypothèse que les apports en fer pourraient être associés à une augmentation de risque de cancer du sein, en particulier si l'apport concomitant d'antioxydants est faible et si l'alimentation est par ailleurs riche en lipides.

La littérature épidémiologique disponible concernant la relation entre les apports en fer et le risque de cancer du sein est limitée et, à notre connaissance, aucune étude n'a investigué une potentielle modification de cette association par la consommation d'antioxydants ou l'apport lipidique. En revanche de précédentes études ont montré que la consommation d'antioxydants modifiait l'association entre la consommation de charcuterie et le risque de cancer du sein (SU.VI.MAX) et entre les apports en fer et le risque de cancer colorectal (E3N). Dans ces études, des associations directes étaient observées dans le cas de moindres apports en antioxydants.

Ainsi, l'objectif de cette étude était d'investiguer l'association entre les apports en fer le risque de cancer du sein en considérant une modification de cette association par une supplémentation en antioxydants (dans le cadre de l'essai contrôlé randomisé SU.VI.MAX) et par les apports en lipides.

Méthodes : Cette étude a été conduite sur la cohorte SU.VI.MAX (1994-2007) en utilisant le design d'essai contrôlé randomisé en double aveugle contre placebo (voir la description de la cohorte). 4646 femmes ayant fourni au moins 3 enregistrements alimentaires de 24h au cours des deux premières années de suivi ont été incluses dans les analyses, parmi lesquelles 188 cas incidents de cancer du sein ont été diagnostiqués (suivi médian : 12,6 ans). Les associations entre les tertiles d'apports alimentaires en fer et le risque de cancer du sein ont été étudiées à l'aide de modèles de Cox multivariés.

Résultats : Des apports en fer plus élevés étaient associés à une augmentation de risque de cancer du sein (HR T3 vs. T1=1,67 (1,02-2,71), P-trend=0,04), association qui n'était plus observée chez les participants ayant reçu une supplémentation en antioxydants à dose nutritionnelle (P-trend=0,7). En revanche, une association directe entre apports en fer et risque de cancer du sein était observée dans le groupe non-supplémenté (HR T3 vs. T1=2,80 (1,42-5,54), P-trend=0,003, P-interaction=0,1), en particulier chez les femmes consommant plus de lipides (\geq médiane, HR T3 vs. T1=2,57 (0,86-7,69), P-trend=0,046, P-interaction=0,3), de DHA (acide docosahexaénoïque, HR T3 vs. T1=3,67 (1,30-10,33), P-trend=0,01, P-interaction=0,3) ou d'EPA (acide eicosapentaénoïque, HR T3 vs. T1=4,38 (1,58-12,1), P-trend=0,004, P-interaction=0,04)

Conclusion : Dans cette étude prospective, les apports alimentaires en fer étaient associés à une augmentation de risque de cancer du sein. Cette association était modifiée par la supplémentation en antioxydants de l'essai SU.VI.MAX et par l'apport lipidique. Les apports en fer étaient en effet associés à une augmentation de risque de cancer du sein chez les femmes non-supplémentées en antioxydants, en particulier si l'apport en lipides était plus élevé. Ces résultats sont donc cohérents avec les hypothèses mécanistiques suggérant que le fer pourrait induire une augmentation de risque de cancer du sein, notamment à travers un phénomène de peroxydation lipidique.

III. Autres travaux

Au cours de ma thèse, j'ai eu l'opportunité de co-encadrer 4 stages de Master 2 et ainsi de collaborer aux travaux étiologiques suivants portant sur les liens entre la nutrition et le risque de cancer (cohorte SU.VI.MAX) :

- Association prospective entre la consommation d'alcool et le risque de cancers hormono-dépendant – modulation par les apports en fibres alimentaires (**Chhim AS et al.** Prospective association between alcohol intake and hormone-dependent cancer risk – modulation by dietary fiber intake. **Am J Clin Nutr.** 2015 Jul;102(1):182-9.)
- Association prospective entre les apports en vitamine B9 (folates) et le risque de cancers de la peau (**Donnenfeld M et al.** Prospective association between dietary folate intake and skin cancer risk: results from the Supplémentation en Vitamines et Minéraux Antioxydants cohort. **Am J Clin Nutr.** 2015 Aug;102(2):471-8.)
- Association prospective entre un score individuel mesurant la qualité globale de l'alimentation (score FSA-NPS DI) et le risque de cancer (**Donnenfeld M et al.** Prospective association between

cancer risk and an individual dietary index based on the British Food Standard Agency nutrient profiling system. **Br J Nutr. 2015 Nov;114(10):1702-10.**)

- Association entre un score mesurant le potentiel pro/anti-inflammatoire de l'alimentation (DII) et la mortalité – modulation par la supplémentation en antioxydants de l'essai SU.VI.MAX (**Graffouillère L et al.** Prospective association between the Dietary Inflammatory Index and mortality – modulation by an antioxidant supplementation in the SU.VI.MAX cohort study. **Am J Clin Nutr. 2016 Mar;103(3):878-85.**)
- Association entre un score mesurant le potentiel pro/anti-inflammatoire de l'alimentation (DII) et le risque de cancer (**Graffouillère L et al.** The Dietary Inflammatory Index (DII) is associated with prostate cancer risk in French middle-aged adults in a prospective study. **J Nutr. 2016 Apr;146(4):785-91.**)

Perspectives de recherche

I. Vitamine D et santé : de nombreux points restant à élucider

La vitamine D a été très étudiée au cours des dernières décennies. Les connaissances produites ont notamment permis de mieux comprendre le rôle joué par la vitamine D dans différents processus physiologiques. Cependant, de nombreux points restent à élucider aussi bien au niveau des associations entre la vitamine D et la santé (cancer et autres pathologies ou états de santé) qu'au niveau de la détermination des seuils « optimaux » pour le statut en vitamine D.

A) Vitamine D, cancer et autres maladies chroniques/états de santé

Comme évoqué en introduction, la vitamine D est impliquée dans la régulation de très nombreux gènes au niveau de différents tissus de l'organisme (expression du *VDR*, conversion 25(OH)D-1,25(OH)₂D), ce qui a conduit à de nombreuses hypothèses associant la vitamine D à la prévention de différentes maladies chroniques.

Cette thèse portait notamment sur les liens entre la vitamine D et le risque de cancer avec l'étude de trois types de cancer : cancer du sein, cancer de la prostate et cancers liés au tabac. Toutefois, les hypothèses mécanistiques soutenant la possibilité d'un rôle de la vitamine D dans la prévention de ces cancers peuvent également s'appliquer à d'autres localisations. Il serait donc intéressant d'étudier ces autres localisations, plus rares, dans des échantillons de grande taille dans lesquels un nombre suffisant de cas aurait été diagnostiqué. De plus, il est également intéressant d'étudier les associations entre la vitamine D et d'autres maladies chroniques/états de santé (ex. maladies cardiovasculaires, diabète, syndrome métabolique, hypertension artérielle, obésité, infections, santé mentale). Dans la cohorte SU.VI.MAX, deux études ont été réalisées en ce sens (voir la liste des publications), l'une portait sur les relations entre le statut en vitamine D et les performances cognitives (Assmann KE et al. [40]) et l'autre sur les relations entre le statut en vitamine D et les symptômes dépressifs (Collin C et al. Under review).

Par ailleurs, les travaux étiologiques présentés dans cette thèse ont mis en évidence que les relations entre vitamine D et cancer étaient complexes. En effet, différents paramètres sont susceptibles de modifier ces associations, et pourraient également modifier les relations entre la vitamine D et d'autres maladies chroniques/états de santé.

D'une part, nous avons vu que la relation entre la vitamine D et le risque de cancer était modifiée par des caractéristiques individuelles. Dans notre étude nous avons notamment observé une modification de la relation entre la vitamine D et le risque de cancer par le statut pondéral et la consommation d'alcool. Ces paramètres individuels peuvent en effet modifier le métabolisme et donc la réponse à la vitamine D (ex. statut pondéral : possible modification du ratio synthèse/dégradation dans le tissu adipeux et références de « statut en vitamine D normal » potentiellement différentes) et/ou être des facteurs de risque dont la vitamine D pourrait contrer certains effets délétères (ex. consommation d'alcool). Cette possible modification des relations entre la vitamine D et le risque de cancer par des facteurs individuels telle qu'observée dans nos différents travaux étiologiques pourrait s'appliquer à d'autres états de santé ou d'autres paramètres (ex. la prise de THM) et constitue une hypothèse intéressante pouvant contribuer à expliquer les contrastes entre les résultats observés dans la littérature.

De plus, à l'inverse, la vitamine D pourrait également être envisagée comme un facteur modificateur des relations entre différents paramètres individuels et le risque de cancer (et autres

états de santé). En effet, une interaction observée signifie qu'un facteur a modifié l'effet potentiel de l'autre vis-à-vis de l'issue considérée. Dans notre étude portant sur le risque de cancer du sein, nous avons ainsi mis en évidence des interactions entre vitamine D et statut pondéral (IMC) d'une part et consommation d'alcool d'autre part vis-à-vis du risque de cancer du sein. Si nous avons considéré que le statut pondéral et la consommation d'alcool modifiaient la relation entre le statut en vitamine D et le risque de cancer du sein, il pourrait aussi être intéressant d'étudier l'effet potentiellement modificateur de la vitamine D sur la relation entre ces deux facteurs de risque reconnus de cancer du sein et le risque de cancer du sein. Plus largement, il pourrait alors être intéressant d'envisager la vitamine D comme un facteur modificateur des relations entre d'autres paramètres individuels et le risque de cancer (ou autres maladies chroniques) afin d'investiguer la possibilité que l'effet de la vitamine D ne soit pas entièrement un effet « propre » mais soit lié à un cumul de différents facteurs de risque (facteurs individuels et insuffisance en vitamine D) ou soit lié au fait que la vitamine D pourrait agir de manière bénéfique en « contrant » certains effets délétères induits par les facteurs individuels étudiés.

D'autre part, dans les pays situés à des latitudes élevées, la vitamine D ne peut être synthétisée entre Octobre et Mars. Ainsi, hors prise de compléments alimentaires ou de médicaments à base de vitamine D, l'organisme dépend de ses réserves et des rares apports alimentaires pour maintenir un statut adéquat en vitamine D durant cette période. De fait, il est généralement observé que les concentrations en 25(OH)D diminuent au cours des mois d'hiver. Dans la Partie 1. II., nous avons montré que les individus pour lesquels le prélèvement sanguin avait été réalisé en fin d'hiver/début de printemps présentaient des concentrations plus faibles en 25(OH)D. Certaines hypothèses se basent même sur ces fluctuations saisonnières pour expliquer les relations délétères observées entre des concentrations en 25(OH)D élevées et le risque de cancer. En effet, d'importantes variations saisonnières du statut en vitamine D pourraient être à l'origine de perturbations de l'équilibre entre production et dégradation de la 1,25(OH)₂D dans le sens d'une trop forte dégradation des 25(OH)D et 1,25(OH)₂D [264, 265], ce qui pourrait induire des conséquences au niveau local, notamment pour la régulation cellulaire. Ainsi, même s'il a été montré qu'une seule mesure de la concentration en 25(OH)D pouvait être considérée comme appropriée dans le cadre d'études prospectives [228], il pourrait être pertinent d'étudier de manière plus poussée l'impact de l'amplitude des fluctuations saisonnières sur le risque de cancer ou d'autres maladies chroniques/états de santé à l'aide de mesures répétées de la concentration en 25(OH)D au cours des saisons.

B) Vitamine D : statut, polymorphismes génétiques, apports et supplémentation

Pour étudier les liens entre la vitamine D et différents états de santé, la vitamine D devrait être envisagée à la fois comme le statut en vitamine D, les polymorphismes de gènes impliqués dans le métabolisme de la vitamine D, les apports alimentaires en vitamine D et la prise de compléments alimentaires ou de médicaments à base de vitamine D. Si le statut en vitamine D et les polymorphismes génétiques sont des paramètres biologiques pouvant être mesurés, l'estimation des apports alimentaires en vitamine D et de la prise de compléments alimentaires ou médicaments à base de vitamine D dépendent de la déclaration réalisée par les individus et des outils disponibles dans les cohortes.

Dans la cohorte SU.VI.MAX, les apports alimentaires en vitamine D n'étaient ni associés au statut en vitamine D ni au risque de cancer. Toutefois, les apports observés étaient faibles. En effet, ceux-ci ont été estimés à partir d'enregistrements alimentaires effectués au début du suivi (1994-1997). Or, à cette époque en France, les produits alimentaires enrichis en vitamine D n'étaient pas

aussi courants qu'ils ne le sont aujourd'hui et la table de composition SU.VI.MAX ne prenait que partiellement en compte le caractère enrichi ou non des produits. Dans d'autres cohortes (ex. la cohorte NutriNet-Santé), le différentiel entre des produits « classiques » ou enrichis en vitamine D pourrait être fait au moment de la déclaration des consommations alimentaires. Il serait alors possible de prendre en compte cette consommation de produits enrichis pour étudier plus finement les apports alimentaires en vitamine D et ses sources, notamment en lien avec le statut en vitamine D ou avec différentes maladies chroniques/états de santé.

De plus, dans la cohorte SU.VI.MAX, la prise de compléments alimentaires était limitée pendant la durée de l'essai d'intervention et peu d'information était disponible concernant la période de suivi post-essai. Il pourrait être intéressant d'étudier (au niveau qualitatif et quantitatif) les pratiques de prise de compléments alimentaires ou médicaments à base de vitamine D (ex. doses, fréquence, interaction avec d'autres vitamines/minéraux ou médicaments, automédication) et leur relation avec le statut en vitamine D ou différents états de santé. Pour cela, des informations détaillées doivent être collectées sur la consommation de compléments alimentaires et de médicaments à base de vitamine D, avec l'implémentation d'une table de composition pour ces produits. Ce travail a notamment été réalisé dans la cohorte NutriNet-Santé : collecte de données sur la consommation de compléments alimentaires (substance, produits, fréquence, nombres d'unités/jour) et mise en place d'une table de composition des compléments alimentaires (projet QUANTICA financé par le Cancéropôle Ile-de-France).

Dans notre étude sur les connaissances liées à la vitamine D dans la cohorte NutriNet-Santé, nous avons pu mettre en lien le statut en vitamine D mesuré avec l'opinion des individus sur leur statut. Dans l'optique d'une confrontation entre connaissances/croyances des participants et comportements effectifs observés, une estimation plus précise des apports en vitamine D provenant de l'alimentation ou de compléments alimentaires pourrait être mise en regard des connaissances des participants, notamment concernant les sources de vitamine D.

C) De nouvelles études nécessaires

Pour élucider ces questions, de nouvelles études sont donc nécessaires. Ces nouvelles études pourraient notamment permettre de vérifier les résultats obtenus dans le cadre des travaux présentés ici (résultats principaux et interactions) dans d'autres populations (autres pays, autres habitudes alimentaires, autres latitudes, etc.) mais également de tester d'autres hypothèses.

Différents types d'études complémentaires peuvent ainsi être envisagées :

- Des études d'observation menées dans des cohortes incluant un grand nombre de participants bien caractérisés permettant d'avoir une puissance statistique adéquate dans les analyses descriptives et les analyses étiologiques. En particulier, les études portant sur le statut en vitamine D devrait bien préciser la distribution des concentrations en 25(OH)D au sein de la population d'étude et les concentrations comparées (utilisation de seuils de référence : carence/insuffisance et/ou de seuils propres à chaque cohorte : percentiles).
- Des analyses poolées⁴ permettant de regrouper les données obtenues dans différentes populations.

⁴ L'EREN, dans le cadre de la cohorte SU.VI.MAX, participe au Endogenous Hormones, Nutritional Biomarkers and Prostate Cancer Collaborative Group. Différentes études ont été réalisées à ce jour, notamment une étude portant sur la concentration en IGFs en lien avec le risque de cancer de la prostate (Travis RC et al., voir la liste des publications). Une étude est en cours de préparation sur les liens entre le statut en vitamine D et le risque de cancer de la prostate pour laquelle nous avons fourni les données de dosages obtenues dans le cadre du projet IRESP « vitamine D et cancer ».

- Des études d'intervention menées sur une durée suffisamment longue, avec des doses appropriées, des issues principales d'intérêt bien définies et des populations d'étude diversifiées et bien caractérisées (prenant notamment en compte le statut en vitamine D à l'inclusion).
- Des méta-analyses permettant d'agrégier les différents résultats disponibles.

Enfin, un travail d'expertise collective permettra de faire le point sur les différentes études réalisées et sur les niveaux de preuve associés aux différentes facettes des relations entre la vitamine D et la santé.

D) Détermination du statut sanguin « optimal » pour la vitamine D

Une fois que des niveaux de preuve auront été établis pour les différents états de santé potentiellement associés à la vitamine D, il pourra être envisagé d'établir des recommandations consensuelles sur le statut « optimal » en vitamine D, en prenant en compte l'ensemble des informations disponibles. Le statut « optimal » en vitamine D (limites inférieures et supérieures associées à un bon état de santé) est dépendant des seuils de concentration pour lesquels un effet potentiellement bénéfique de la vitamine D serait observé (seuil « efficace ») mais aussi des seuils de concentration au-delà desquels cet effet pourrait être potentiellement délétère. En effet, un phénomène de « courbe en U » a déjà été observé pour la vitamine D (notamment en lien avec le risque de cancer de la prostate) et devait être pris en compte.

Avec la définition d'un statut « optimal » pour la vitamine D, des politiques de santé publique peuvent être établies dans l'optique d'améliorer le statut en vitamine D de la population. Ces politiques peuvent notamment prendre en compte les résultats descriptifs obtenus dans nos travaux (et dans d'autres cohortes) pour cibler les profils d'individus à risque de présenter un statut trop bas et les déterminants modifiables du statut en vitamine D (leviers d'action) et pour adapter les messages et les informations à mettre à disposition du public en fonction des connaissances (et lacunes) de la population sur la vitamine D.

II. Perspectives de recherche en épidémiologie nutritionnelle

De manière « classique », l'épidémiologie nutritionnelle étudie les liens entre la nutrition (notamment l'alimentation) et la santé en utilisant des outils de collecte de données de type questionnaires (notamment alimentaires). Si ces outils ont permis d'étudier un grand nombre d'associations, l'émergence d'outils innovants permet aujourd'hui d'ouvrir de nouvelles perspectives.

A) Epidémiologie nutritionnelle et nouvelles technologies : collecte des données

L'étude NutriNet-Santé est pionnière dans l'utilisation d'Internet pour la recherche en épidémiologie nutritionnelle [206]. L'utilisation d'Internet a permis de faciliter le contact avec les participants (site internet, mails) et constitue un intérêt important pour le traitement des informations (réponses aux différents questionnaires rapidement mises à disposition dans des bases de données informatiques, coût et logistique allégés, etc.).

Au-delà de l'utilisation d'Internet, l'épidémiologie pourrait maintenant bénéficier des nouvelles technologies disponibles dans le domaine de l'e-santé, notamment les smartphones ou les différents appareils connectés développés ces dernières années. Ces appareils permettraient en effet de recueillir de nombreuses informations comme l'alimentation (application téléphone

dédiée), le niveau d'activité physique, le poids, la tension artérielle mais également des paramètres biologiques comme le taux sanguin de glucose par exemple. Ces appareils connectés constituent ainsi un fort potentiel pour la recherche en santé en facilitant la collecte de données pour lesquelles une visite clinique (et donc un déplacement) était jusqu'à présent nécessaire. De même, certains kits ont été développés pour permettre de récolter à distance des échantillons biologiques (ex. selles, salive) par un échange postal.

B) Vers une épidémiologie nutritionnelle plus mécanistique

Les liens entre la nutrition et la santé sont complexes et peuvent être influencés par de nombreux paramètres. Les travaux étiologiques menés dans le cadre de cette thèse avaient pour vocation d'apporter certains éléments pour mieux comprendre les mécanismes qui sous-tendent la relation entre la nutrition et le risque de développer des maladies chroniques (ici, le cancer).

Ainsi, une grande partie des travaux menés dans cette thèse était basée sur un marqueur biologique du statut nutritionnel en vitamine D (concentration plasmatique en 25(OH)D) et sur des données de génotypage et ont permis de montrer l'importance de l'interaction de l'individu avec son environnement.

D'autres types d'études épidémiologiques mécanistiques peuvent également être conduits, notamment en testant des hypothèses mécanistiques provenant directement d'études expérimentales. Ceci était l'objet de l'étude portant sur l'association entre les apports en fer et le risque de cancer du sein en considérant une modification éventuelle par des apports en antioxydants et en lipides. Cette étude est née d'une collaboration dans le cadre du réseau NACRe (réseau National Alimentation Cancer Recherche) avec une équipe menant des travaux expérimentaux sur des modèles animaux (INRA Toxalim, Toulouse). La collaboration entre recherche épidémiologique et expérimentale est importante et indispensable, elle permet en effet d'établir des échanges mutuels entre proposition et vérification d'hypothèses.

Par ailleurs, cette collaboration de l'épidémiologie avec des domaines de recherche plus « mécanistiques » ouvre un champ de recherche important en particulier avec l'utilisation de nouvelles technologies :

- Métabolomique : pour étudier la relation entre la nutrition et le risque de développer des maladies chroniques, il pourrait être intéressant d'utiliser des biomarqueurs nutritionnels reflétant un certain type d'alimentation, ou plus généralement des biomarqueurs reflétant un certain profil à risque de développer ces pathologies. Si certains biomarqueurs sont connus, la recherche de nouveaux biomarqueurs plus spécifiques et/ou plus prédictifs est nécessaire. Ceci souligne l'intérêt d'utiliser la métabolomique dans le cadre de l'étude des liens entre la nutrition et la santé. La métabolomique permet en effet d'obtenir une vision de l'ensemble des métabolites présents dans un compartiment biologique donné (en particulier dans un échantillon sanguin). La mise en relation de ces profils de métabolites avec l'alimentation et/ou la santé permet donc la découverte de nouveaux biomarqueurs. C'est notamment l'objet de deux projets en cours au sein de l'EREN pilotés par le Dr Mathilde Touvier : Métabo-KS et Métabo-KP (découverte de biomarqueurs prédictifs pour le cancer du sein et de la prostate respectivement) dans lesquels j'ai eu l'opportunité de m'impliquer dans le cadre de ma thèse (participation à la mise en place des projets, réunion avec les différents partenaires, co-encadrement d'un stage de Master 2).
- Caractérisation du microbiote intestinal : ce domaine de recherche à l'interface entre la nutrition et le développement de maladies chroniques est particulièrement intéressant et

est source de nombreuses pistes de recherche. En effet, le microbiote présent dans notre intestin serait influencé par la nutrition et, différentes études montrent que sa composition (abondance, diversité) pourrait être liée au développement de nombreuses pathologies. C'est pourquoi j'ai choisi d'étudier cette thématique dans le cadre d'un projet de recherche postdoctoral à l'Academisch Medisch Centrum (AMC), Université d'Amsterdam, à partir de l'automne 2016.

Conclusion générale

Ce travail de thèse s'inscrit dans un contexte où la vitamine D suscite une attention grandissante de la part de la communauté scientifique et médicale mais aussi du public. Il a permis d'étudier cette vitamine-hormone sous différents angles : un aspect descriptif portant sur l'étude du statut en vitamine D et ses déterminants, et sur les connaissances liées à la vitamine D en population générale, et un aspect étiologique portant sur l'étude prospective de l'association entre la vitamine D (statut et polymorphismes génétiques) et le risque de différents cancers.

Les travaux descriptifs menés ont bénéficié des données collectées dans le cadre de deux cohortes : la cohorte SU.VI.MAX et la cohorte NutriNet-Santé.

L'étude des connaissances liées à la vitamine D de 60 000 participants de la cohorte NutriNet-Santé a permis de mettre en évidence que les médecins mais aussi les médias étaient les principales sources d'information concernant la vitamine D et qu'il existait une certaine confusion par rapport aux effets santé établis ou non de la vitamine D mais aussi concernant ses sources. Ces résultats étaient clairement modifiés par un effet d'âge/de génération et de facteurs socioéconomiques. Ainsi, globalement, une meilleure connaissance de la vitamine D était observée chez les femmes, les individus ayant un niveau d'éducation plus élevé et chez ceux ayant un revenu plus élevé. Une importante incohérence a été par ailleurs observée entre ce que les individus pensent de leur statut en vitamine D (trop bas ou non) et leur statut effectivement mesuré. Ces observations soulignent l'importance d'une communication claire concernant la vitamine D et suggèrent que des éléments d'information sur la vitamine D devraient être mis à disposition du public mais aussi des professionnels de santé.

Dans la cohorte SU.VI.MAX, l'étude simultanée de différents déterminants du statut en vitamine D sur 1850 participants a permis de mettre en évidence que bien que certains facteurs influençant le statut en vitamine D ne soient pas modifiables (sexe, âge, polymorphismes du gène *GC*), d'autres pourraient être modifiés, comme le fait de s'exposer au soleil de façon modérée (compatible avec les recommandations associées à la prévention des cancers de la peau), de pratiquer une activité physique régulière et de maintenir un poids normal, et pourraient donc faire l'objet de recommandations de santé publique. L'identification de ces déterminants du statut en vitamine D a conduit à l'élaboration d'un score simple qui pourrait être utilisé en pratique clinique pour détecter des individus à risque d'insuffisance en vitamine D (score VDIP). Ce score a été construit sur 1557 participants de la cohorte SU.VI.MAX en se basant sur 7 caractéristiques individuelles facilement accessibles lors d'un examen clinique (sexe, statut pondéral, activité physique usuelle, latitude du lieu d'habitation, période de prélèvement sanguin, exposition solaire usuelle et phototype) et sur un système de calcul simplifié. Le score VDIP a montré de bonnes performances et a été testé sur 781 participants de la cohorte NutriNet-Santé. Ainsi, ce score, dont l'implémentation en pratique nécessite une courte checklist et une feuille de calcul, pourrait servir de premier outil de détection permettant de mieux cibler les individus à risque d'insuffisance en vitamine D et donc de limiter la supplémentation systématique ou les dosages.

Ainsi, ces travaux permettant d'avoir à la fois un meilleur aperçu des connaissances et des croyances concernant la vitamine D en population générale et une meilleure connaissance des facteurs influençant le statut en vitamine D devraient contribuer à améliorer le statut en vitamine D de la population. De plus, la prise en compte du statut en vitamine D a permis de définir des valeurs de références plus appropriées pour la concentration en PTH, ce qui devrait contribuer à l'amélioration du diagnostic d'une hyperparathyroïdie.

Les travaux étiologiques menés sur l'association entre la vitamine D et le risque de cancer dans le cadre d'une étude cas-témoin nichée dans la cohorte SU.VI.MAX ont mis en évidence qu'un statut plus élevé en vitamine D (parmi des concentrations plasmatiques en 25(OH)D faibles à modérées telles qu'observées dans cette étude) pourrait être associé à une diminution de risque de cancer du sein (233 cas), de cancer de la prostate (129 cas) ou de cancers liés au tabac (209 cas).

Ces associations seraient toutefois modifiées par différents facteurs individuels. En effet, un statut plus élevé en vitamine D était associé à une diminution de risque de cancer du sein uniquement chez les femmes minces, et chez celles présentant des apports en alcool modérés à élevés, et à une diminution de cancers liés au tabac plus particulièrement chez les fumeurs (anciens fumeurs et actuels). Ceci suggère que la vitamine D pourrait contrer certains effets délétères liés à des comportements à risque : alcool et risque de cancer du sein, tabac et risque de cancers liés au tabac. Par ailleurs, dans notre étude (et d'autres études précédentes), un statut plus élevé en vitamine D était associé à une augmentation de risque de cancer du sein chez les femmes en surpoids ou obèses.

Les résultats obtenus pour les polymorphismes génétiques soutiennent les résultats observés avec le statut en vitamine D. Le polymorphisme *GC* rs4588 (allèle T, activité moindre de transport de la vitamine D) était associé à une augmentation de risque de cancer du sein, en particulier chez les femmes de poids normal. Le polymorphisme *VDR* BsmI (allèle T, expression plus importante de la vitamine D) était quant à lui associé à une diminution de risque de cancer du sein chez les femmes avec un statut en vitamine D plus élevé et chez les femmes avec des consommations d'alcool modérées à élevées (donc étant plus à risque de cancer du sein). Enfin, les polymorphismes *VDR* FokI et *RXR* rs7861779 (allèles A et T respectivement, expression moindre de la vitamine D) étaient associées à une augmentation de risque de cancers liés au tabac.

Ces résultats fournissent donc des pistes intéressantes et novatrices sur des facteurs modificateurs potentiels (statut pondéral, consommation d'alcool, tabagisme) des relations entre le statut en vitamine D, les polymorphismes génétiques et le risque de cancers du sein, de la prostate et de cancers liés au tabac, et pourraient ainsi contribuer, à terme, à l'optimisation des recommandations nutritionnelles de santé publique pour la prévention primaire des cancers.

Références

- (1) Afsse, InVS, Afssaps. Ultraviolets, Etat des connaissances sur l'exposition et les risques sanitaires. 2005.
- (2) Commission Internationale de l'Eclairage, World Meteorological Organization. CIE 209:2014 Rationalizing Nomenclature for UV Doses and Effects on Humans. 2014.
- (3) Lucas R, McMichael T, Smith W, et al. Solar Ultraviolet Radiation, Global burden of disease from solar ultraviolet radiation. Prüss-Üstün A, Zeeb H, Mathers C, Repacholi M, editors. 2006. **Geneva**, World Health Organization. Environmental Burden of Disease Series, No. 13.
- (4) Bikle DD. Vitamin D metabolism and function in the skin. *Mol Cell Endocrinol* 2011;347:80-89.
- (5) Holick MF. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med* 2007;357:266-281.
- (6) Hossein-Nezhad A, Holick MF. Vitamin D for health: a global perspective. *Mayo Clin Proc* 2013;88:720-755.
- (7) Lehmann B, Querings K, Reichrath J. Vitamin D and skin: new aspects for dermatology. *Exp Dermatol* 2004;13 Suppl 4:11-15.
- (8) Reichrath J. Vitamin D and the skin: an ancient friend, revisited. *Exp Dermatol* 2007;16:618-625.
- (9) Holick MF. Vitamin D: A millenium perspective. *J Cell Biochem* 2003;88:296-307.
- (10) Holick MF, Chen TC, Lu Z, et al. Vitamin D and skin physiology: a D-lightful story. *J Bone Miner Res* 2007;22 Suppl 2:V28-V33.
- (11) Webb AR. Who, what, where and when-influences on cutaneous vitamin D synthesis. *Prog Biophys Mol Biol* 2006;92:17-25.
- (12) Spiro A, Buttriss JL. Vitamin D: An overview of vitamin D status and intake in Europe. *Nutr Bull* 2014;39:322-350.
- (13) Engelsen O. The relationship between ultraviolet radiation exposure and vitamin D status. *Nutrients* 2010;2:482-495.
- (14) Clemens TL, Adams JS, Henderson SL, et al. Increased skin pigment reduces the capacity of skin to synthesise vitamin D3. *Lancet* 1982;1:74-76.
- (15) Gilchrest BA. Sun exposure and vitamin D sufficiency. *Am J Clin Nutr* 2008;88:570S-577S.
- (16) WHO/IARC. Vitamin D and Cancer. 2008. Lyon, France.
- (17) Jones G. Vitamin D. In: Ross AC, Caballero B, Cousins RJ, Tucker KL, Ziegler TR, editors. *Modern Nutrition in Health and Disease*, 11th edition. Wolters Kluwer, Lippincott Williams & Wilkins 2012:278-292.
- (18) EFSA. Scientific Opinion on the Tolerable Upper Intake Level of vitamin D. 2012.
- (19) Anses. Composition nutritionnelle des aliments TABLE Ciqua version 2013. CIQUAL: 2016. From: <https://pro.anses.fr/tableciqua/>
- (20) Afssa. Etude Individuelle Nationale des Consommations Alimentaires 2 (INCA 2). 2009.
- (21) Anses. AVIS de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail relatif à l'évaluation des apports en vitamines et minéraux issus de l'alimentation non enrichie, de l'alimentation enrichie et des compléments alimentaires dans la population française : estimation des apports usuels, des prévalences d'inadéquation et des risques de dépassement des limites de sécurité (saisine n°2012-SA-0142). 13-3-2015. Maisons-Alfort.
- (22) Institute of Medecine. Dietary Reference Intakes for Calcium and Vitamin D. 2011. Washington, DC, The National Academies Press.

- (23) Vidailhet M, Mallet E, Bocquet A, et al. Vitamin D: still a topical matter in children and adolescents. A position paper by the Committee on Nutrition of the French Society of Paediatrics. *Arch Pediatr* 2012;19:316-328.
- (24) CNGOF. Collège National des Gynécologues et Obstétriciens Français. Supplémentation au cours de la grossesse [Supplementation during pregnancy] (in French). 1997.
- (25) Holick MF. Sunlight and vitamin D for bone health and prevention of autoimmune diseases, cancers, and cardiovascular disease. *Am J Clin Nutr* 2004;80:1678S-1688S.
- (26) Dusso AS, Brown AJ, Slatopolsky E. Vitamin D. *Am J Physiol Renal Physiol* 2005;289:F8-28.
- (27) Malik S, Fu L, Juras DJ, et al. Common variants of the vitamin D binding protein gene and adverse health outcomes. *Crit Rev Clin Lab Sci* 2013;50:1-22.
- (28) Speeckaert MM, Speeckaert R, van GN, et al. Vitamin D binding protein: a multifunctional protein of clinical importance. *Adv Clin Chem* 2014;63:1-57.
- (29) DeLuca HF. Overview of general physiologic features and functions of vitamin D. *Am J Clin Nutr* 2004;80:1689S-1696S.
- (30) Jones G, Strugnell SA, DeLuca HF. Current understanding of the molecular actions of vitamin D. *Physiol Rev* 1998;78:1193-1231.
- (31) Drincic AT, Armas LA, Van Diest EE, et al. Volumetric dilution, rather than sequestration best explains the low vitamin D status of obesity. *Obesity (Silver Spring)* 2012;20:1444-1448.
- (32) Norman AW. From vitamin D to hormone D: fundamentals of the vitamin D endocrine system essential for good health. *Am J Clin Nutr* 2008;88:491S-499S.
- (33) Rowling MJ, Kemmis CM, Taffany DA, et al. Megalin-mediated endocytosis of vitamin D binding protein correlates with 25-hydroxycholecalciferol actions in human mammary cells. *J Nutr* 2006;136:2754-2759.
- (34) Nykjaer A, Dragun D, Walther D, et al. An endocytic pathway essential for renal uptake and activation of the steroid 25-(OH) vitamin D3. *Cell* 1999;96:507-515.
- (35) Panda DK, Miao D, Bolivar I, et al. Inactivation of the 25-hydroxyvitamin D 1alpha-hydroxylase and vitamin D receptor demonstrates independent and interdependent effects of calcium and vitamin D on skeletal and mineral homeostasis. *J Biol Chem* 2004;279:16754-16766.
- (36) Beudart C, Buckinx F, Rabenda V, et al. The effects of vitamin D on skeletal muscle strength, muscle mass, and muscle power: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *J Clin Endocrinol Metab* 2014;99:4336-4345.
- (37) Bischoff-Ferrari HA. Relevance of vitamin D in muscle health. *Rev Endocr Metab Disord* 2012;13:71-77.
- (38) Moukayed M, Grant WB. Molecular link between vitamin D and cancer prevention. *Nutrients* 2013;5:3993-4021.
- (39) Zasloff M. Sunlight, vitamin D, and the innate immune defenses of the human skin. *J Invest Dermatol* 2005;125:xvi-xvii.
- (40) Assmann KE, Touvier M, Andreeva VA, et al. Midlife plasma vitamin D concentrations and performance in different cognitive domains assessed 13 years later. *Br J Nutr* 2015;113:1628-1637.
- (41) van der Schaft J, Koek HL, Dijkstra E, et al. The association between vitamin D and cognition: a systematic review. *Ageing Res Rev* 2013;12:1013-1023.
- (42) Parker J, Hashmi O, Dutton D, et al. Levels of vitamin D and cardiometabolic disorders: systematic review and meta-analysis. *Maturitas* 2010;65:225-236.

- (43) Theodoratou E, Tzoulaki I, Zgaga L, et al. Vitamin D and multiple health outcomes: umbrella review of systematic reviews and meta-analyses of observational studies and randomised trials. *BMJ* 2014;348:g2035.
- (44) European Commission. EU Register on nutrition and health claims. European Commission: 2016. From: <http://ec.europa.eu/nuhclaims/>
- (45) Rosen CJ, Abrams SA, Aloia JF, et al. IOM committee members respond to Endocrine Society vitamin D guideline. *J Clin Endocrinol Metab* 2012;97:1146-1152.
- (46) Caulfield T, Clark MI, McCormack JP, et al. Representations of the health value of vitamin D supplementation in newspapers: media content analysis. *BMJ Open* 2014;4:e006395.
- (47) Al Bathi BA, Al Zayed KE, Al Qenai M, et al. Knowledge, attitude and practice of patients attending primary care centers toward vitamin D in Kuwait. *Alexandria Journal of Medicine* 2012;48:277-282.
- (48) Bennett K, Frisby BN, Young LE, et al. Vitamin D: an examination of physician and patient management of health and uncertainty. *Qual Health Res* 2014;24:375-386.
- (49) Boland S, Irwin JD, Johnson AM. A survey of university students' vitamin D-related knowledge. *J Nutr Educ Behav* 2015;47:99-103.
- (50) Bonevski B, Girgis A, Magin P, et al. Prescribing sunshine: a cross-sectional survey of 500 Australian general practitioners' practices and attitudes about vitamin D. *Int J Cancer* 2012;130:2138-2145.
- (51) Bonevski B, Bryant J, Lambert S, et al. The ABC of vitamin D: a qualitative study of the knowledge and attitudes regarding vitamin D deficiency amongst selected population groups. *Nutrients* 2013;5:915-927.
- (52) Christie FT, Mason L. Knowledge, attitude and practice regarding vitamin D deficiency among female students in Saudi Arabia: a qualitative exploration. *Int J Rheum Dis* 2011;14:e22-e29.
- (53) Engels Y, van AP, Dorant E, et al. Factors associated with the intention to use vitamin D supplements: quantitative study among a sample of elderly people in a medium-sized town in the Netherlands. *J Nutr Educ* 2001;33:134-142.
- (54) Janda M, Youl P, Bolz K, et al. Knowledge about health benefits of vitamin D in Queensland Australia. *Prev Med* 2010;50:215-216.
- (55) Kim BH, Glanz K, Nehl EJ. Vitamin D beliefs and associations with sunburns, sun exposure, and sun protection. *Int J Environ Res Public Health* 2012;9:2386-2395.
- (56) Kotta S, Gadhvi D, Jakeways N, et al. "Test me and treat me"--attitudes to vitamin D deficiency and supplementation: a qualitative study. *BMJ Open* 2015;5:e007401.
- (57) Kung AW, Lee KK. Knowledge of vitamin D and perceptions and attitudes toward sunlight among Chinese middle-aged and elderly women: a population survey in Hong Kong. *BMC Public Health* 2006;6:226.
- (58) Reeder AI, Jopson JA, Gray AR. "Prescribing sunshine": a national, cross-sectional survey of 1,089 New Zealand general practitioners regarding their sun exposure and vitamin D perceptions, and advice provided to patients. *BMC Fam Pract* 2012;13:85.
- (59) Tarn DM, Paterniti DA, Wenger NS. Provider Recommendations in the Face of Scientific Uncertainty: An Analysis of Audio-Recorded Discussions about Vitamin D. *J Gen Intern Med* 2016.
- (60) Toher C, Lindsay K, McKenna M, et al. Relationship between vitamin D knowledge and 25-hydroxyvitamin D levels amongst pregnant women. *J Hum Nutr Diet* 2014;27:261-269.
- (61) Uddin R, Huda NH, Jhanker YM, et al. Awareness regarding the importance of calcium and vitamin D among the undergraduate pharmacy students in Bangladesh. *BMC Res Notes* 2013;6:134.
- (62) Walker N, Love TD, Baker DF, et al. Knowledge and attitudes to vitamin D and sun exposure in elite New Zealand athletes: a cross-sectional study. *J Int Soc Sports Nutr* 2014;11:47.

- (63) Youl PH, Janda M, Kimlin M. Vitamin D and sun protection: the impact of mixed public health messages in Australia. *Int J Cancer* 2009;124:1963-1970.
- (64) Vu LH, van der Pols JC, Whiteman DC, et al. Knowledge and attitudes about Vitamin D and impact on sun protection practices among urban office workers in Brisbane, Australia. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2010;19:1784-1789.
- (65) Mithal A, Wahl DA, Bonjour JP, et al. Global vitamin D status and determinants of hypovitaminosis D. *Osteoporos Int* 2009;20:1807-1820.
- (66) Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA, et al. Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab* 2011;96:1911-1930.
- (67) Holick MF. Letter to the Editor. The IOM D-lemma. *Public Health Nutr* 2011;14:939-941.
- (68) Vernay M, Sponga M, Salavane B, et al. Statut en vitamine D de la population adulte en France: l'Etude nationale nutrition santé (ENNS 2006-2007). [Vitamin D status in the French adult population: the French Nutrition and Health Survey (ENNS, 2006-2007)]. *Bulletin épidémiologique hebdomadaire (BEH)* 2012;16-17:189-194.
- (69) Sanders KM, Nicholson GC, Ebeling PR. Is high dose vitamin D harmful? *Calcif Tissue Int* 2013;92:191-206.
- (70) Melamed ML, Michos ED, Post W, et al. 25-hydroxyvitamin D levels and the risk of mortality in the general population. *Arch Intern Med* 2008;168:1629-1637.
- (71) Wang TJ, Pencina MJ, Booth SL, et al. Vitamin D deficiency and risk of cardiovascular disease. *Circulation* 2008;117:503-511.
- (72) IARC. Vitamin D and Cancer. 2008. Lyon, France, International Agency for Research on Cancer. IARC Working Group Reports Vol.5.
- (73) Ross AC, Manson JE, Abrams SA, et al. The 2011 Dietary Reference Intakes for Calcium and Vitamin D: what dietetics practitioners need to know. *J Am Diet Assoc* 2011;111:524-527.
- (74) Freedman DM, Cahoon EK, Rajaraman P, et al. Sunlight and other determinants of circulating 25-hydroxyvitamin D levels in black and white participants in a nationwide U.S. study. *Am J Epidemiol* 2013;177:180-192.
- (75) Bertrand KA, Giovannucci E, Liu Y, et al. Determinants of plasma 25-hydroxyvitamin D and development of prediction models in three US cohorts. *Br J Nutr* 2012;108:1889-1896.
- (76) Engelman CD, Meyers KJ, Iyengar SK, et al. Vitamin D intake and season modify the effects of the GC and CYP2R1 genes on 25-hydroxyvitamin D concentrations. *J Nutr* 2013;143:17-26.
- (77) Saquib N, von MD, Garland CF, et al. Serum 25-hydroxyvitamin D, parathyroid hormone, and bone mineral density in men: the Rancho Bernardo study. *Osteoporos Int* 2006;17:1734-1741.
- (78) Shirazi L, Almquist M, Malm J, et al. Determinants of serum levels of vitamin D: a study of life-style, menopausal status, dietary intake, serum calcium, and PTH. *BMC Womens Health* 2013;13:33.
- (79) Thuesen B, Husemoen L, Fenger M, et al. Determinants of vitamin D status in a general population of Danish adults. *Bone* 2012;50:605-610.
- (80) Hiraki LT, Major JM, Chen C, et al. Exploring the genetic architecture of circulating 25-hydroxyvitamin D. *Genet Epidemiol* 2013;37:92-98.
- (81) Wang TJ, Zhang F, Richards JB, et al. Common genetic determinants of vitamin D insufficiency: a genome-wide association study. *Lancet* 2010;376:180-188.
- (82) Ahn J, Yu K, Stolzenberg-Solomon R, et al. Genome-wide association study of circulating vitamin D levels. *Hum Mol Genet* 2010;19:2739-2745.
- (83) Bouillon R. Genetic and environmental determinants of vitamin D status. *Lancet* 2010;376:148-149.

- (84) Engelman CD, Fingerlin TE, Langefeld CD, et al. Genetic and environmental determinants of 25-hydroxyvitamin D and 1,25-dihydroxyvitamin D levels in Hispanic and African Americans. *J Clin Endocrinol Metab* 2008;93:3381-3388.
- (85) Trummer O, Schwetz V, Walter-Finell D, et al. Allelic determinants of vitamin d insufficiency, bone mineral density, and bone fractures. *J Clin Endocrinol Metab* 2012;97:E1234-E1240.
- (86) Glossmann HH. Oral supplementation with calcitriol, calcidiol, vitamin D3 or moderate sun exposure? *J Invest Dermatol* 2013;133:2648-2649.
- (87) Petersen B, Wulf HC, Triguero-Mas M, et al. Sun and Ski Holidays Improve Vitamin D Status, But are Associated with High Levels of DNA Damage. *J Invest Dermatol* 2014.
- (88) Canadian Agency for Drugs and Technologies in Health (CADTH). Vitamin D testing in the general population: a review of the clinical and cost-effectiveness and guidelines. 16-1-2015. Canada.
- (89) National Institute for Health and Care Excellence (NICE). Vitamin D: increasing supplement use among at-risk group. 2014. United Kingdom.
- (90) LeFevre ML, U.S.Preventive Services Task Force. Screening for Vitamin D Deficiency in Adults: U.S. Preventive Services Task Force Recommendation Statement. *Ann Intern Med* 2015;162:133-140.
- (91) Vanchinathan V, Lim HW. A dermatologist's perspective on vitamin D. *Mayo Clin Proc* 2012;87:372-380.
- (92) Lopes JB, Fernandes GH, Takayama L, et al. A predictive model of vitamin D insufficiency in older community people: from the Sao Paulo Aging & Health Study (SPAH). *Maturitas* 2014;78:335-340.
- (93) Nabak AC, Johnson RE, Keuler NS, et al. Can a questionnaire predict vitamin D status in postmenopausal women? *Public Health Nutr* 2014;17:739-746.
- (94) Sohl E, Heymans MW, de Jongh RT, et al. Prediction of vitamin D deficiency by simple patient characteristics. *Am J Clin Nutr* 2014;99:1089-1095.
- (95) Tran B, Armstrong BK, McGeechan K, et al. Predicting vitamin D deficiency in older Australian adults. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2013;79:631-640.
- (96) Bolek-Berquist J, Elliott ME, Gangnon RE, et al. Use of a questionnaire to assess vitamin D status in young adults. *Public Health Nutr* 2009;12:236-243.
- (97) Fraser WD. Hyperparathyroidism. *Lancet* 2009;374:145-158.
- (98) Sahota O, Masud T, San P, et al. Vitamin D insufficiency increases bone turnover markers and enhances bone loss at the hip in patients with established vertebral osteoporosis. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1999;51:217-221.
- (99) van Ballegooijen AJ, Reinders I, Visser M, et al. Parathyroid hormone and cardiovascular disease events: A systematic review and meta-analysis of prospective studies. *Am Heart J* 2013;165:655-64, 664.
- (100) Steingrimsdottir L, Gunnarsson O, Indridason OS, et al. Relationship between serum parathyroid hormone levels, vitamin D sufficiency, and calcium intake. *JAMA* 2005;294:2336-2341.
- (101) Chapuy MC, Preziosi P, Maamer M, et al. Prevalence of vitamin D insufficiency in an adult normal population. *Osteoporos Int* 1997;7:439-443.
- (102) van der Wielen RP, Lowik MR, van den Berg H, et al. Serum vitamin D concentrations among elderly people in Europe. *Lancet* 1995;346:207-210.
- (103) Souberbielle JC, Friedlander G, Cormier C. Practical considerations in PTH testing. *Clin Chim Acta* 2006;366:81-89.
- (104) Cavalier E, Delanaye P, Vranken L, et al. Interpretation of serum PTH concentrations with different kits in dialysis patients according to the KDIGO guidelines: importance of the reference (normal) values. *Nephrol Dial Transplant* 2012;27:1950-1956.

- (105) Souberbielle JC, Cormier C, Kindermans C, et al. Vitamin D status and redefining serum parathyroid hormone reference range in the elderly. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:3086-3090.
- (106) Souberbielle JC, Fayol V, Sault C, et al. Assay-specific decision limits for two new automated parathyroid hormone and 25-hydroxyvitamin D assays. *Clin Chem* 2005;51:395-400.
- (107) Lips P. Vitamin D deficiency and secondary hyperparathyroidism in the elderly: consequences for bone loss and fractures and therapeutic implications. *Endocr Rev* 2001;22:477-501.
- (108) Harris SS, Soteriades E, Coolidge JA, et al. Vitamin D insufficiency and hyperparathyroidism in a low income, multiracial, elderly population. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:4125-4130.
- (109) Bell NH, Epstein S, Greene A, et al. Evidence for alteration of the vitamin D-endocrine system in obese subjects. *J Clin Invest* 1985;76:370-373.
- (110) Eastell R, Arnold A, Brandi ML, et al. Diagnosis of asymptomatic primary hyperparathyroidism: proceedings of the third international workshop. *J Clin Endocrinol Metab* 2009;94:340-350.
- (111) Inserm. CépiDC. Interrogation des données sur les causes de décès de 1979 à 2013. 8-5-2016.
- (112) INCa. Les Cancers en France en 2015. 2016.
- (113) WHO/IARC. All Cancers: Estimated Cancer Incidence, Mortality and Prevalence Worldwide in 2012. GLOBOCAN 2012: 2016. From: http://globocan.iarc.fr/Pages/fact_sheets_cancer.aspx
- (114) WCRF/AIRC. Food, Nutrition, Physical Activity and the Prevention of Cancer: a Global Perspective. 2007. Washington, DC: AIRC.
- (115) WCRF/AICR. Cancer preventability estimates for food, nutrition, body fatness, and physical activity. WCRF/AICR: 2016. From: <http://www.wcrf.org/int/cancer-facts-figures/preventability-estimates/cancer-preventability-estimates-diet-nutrition>
- (116) Mohr SB. A brief history of vitamin d and cancer prevention. *Ann Epidemiol* 2009;19:79-83.
- (117) Garland CF, Garland FC. Do sunlight and vitamin D reduce the likelihood of colon cancer? *Int J Epidemiol* 1980;9:227-231.
- (118) Feldman D, Krishnan AV, Swami S, et al. The role of vitamin D in reducing cancer risk and progression. *Nat Rev Cancer* 2014;14:342-357.
- (119) Ordonez-Moran P, Larriba MJ, Pendas-Franco N, et al. Vitamin D and cancer: an update of in vitro and in vivo data. *Front Biosci* 2005;10:2723-2749.
- (120) Uitterlinden AG, Fang Y, van Meurs JB, et al. Genetics and biology of vitamin D receptor polymorphisms. *Gene* 2004;338:143-156.
- (121) Jacobs ET, Martinez ME, Campbell PT, et al. Genetic variation in the retinoid X receptor and calcium-sensing receptor and risk of colorectal cancer in the Colon Cancer Family Registry. *Carcinogenesis* 2010;31:1412-1416.
- (122) Egan JB, Thompson PA, Ashbeck EL, et al. Genetic polymorphisms in vitamin D receptor VDR/RXRA influence the likelihood of colon adenoma recurrence. *Cancer Res* 2010;70:1496-1504.
- (123) Abbas S, Linseisen J, Slinger T, et al. The Gc2 allele of the vitamin D binding protein is associated with a decreased postmenopausal breast cancer risk, independent of the vitamin D status. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2008;17:1339-1343.
- (124) Pacini S, Punzi T, Morucci G, et al. Effects of vitamin D-binding protein-derived macrophage-activating factor on human breast cancer cells. *Anticancer Res* 2012;32:45-52.
- (125) Schellenberg D, Pare PD, Weir TD, et al. Vitamin D binding protein variants and the risk of COPD. *Am J Respir Crit Care Med* 1998;157:957-961.

- (126) Muindi JR, Adjei AA, Wu ZR, et al. Serum vitamin D metabolites in colorectal cancer patients receiving cholecalciferol supplementation: correlation with polymorphisms in the vitamin D genes. *Horm Cancer* 2013;4:242-250.
- (127) Ahn J, Albanes D, Berndt SI, et al. Vitamin D-related genes, serum vitamin D concentrations and prostate cancer risk. *Carcinogenesis* 2009;30:769-776.
- (128) Jeong S, Kim JH, Kim MG, et al. Genetic polymorphisms of CASR and cancer risk: evidence from meta-analysis and HuGE review. *Onco Targets Ther* 2016;9:655-669.
- (129) Kapur K, Johnson T, Beckmann ND, et al. Genome-wide meta-analysis for serum calcium identifies significantly associated SNPs near the calcium-sensing receptor (CASR) gene. *PLoS Genet* 2010;6:e1001035.
- (130) Dong LM, Ulrich CM, Hsu L, et al. Genetic variation in calcium-sensing receptor and risk for colon cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2008;17:2755-2765.
- (131) Hibler EA, Hu C, Jurutka PW, et al. Polymorphic variation in the GC and CASR genes and associations with vitamin D metabolite concentration and metachronous colorectal neoplasia. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2012;21:368-375.
- (132) Kim KZ, Shin A, Kim J, et al. Association between CASR polymorphisms, calcium intake, and colorectal cancer risk. *PLoS One* 2013;8:e59628.
- (133) Touvier M, Chan DS, Lau R, et al. Meta-analyses of vitamin d intake, 25-hydroxyvitamin d status, vitamin d receptor polymorphisms, and colorectal cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2011;20:1003-1016.
- (134) Gandini S, Boniol M, Haukka J, et al. Meta-analysis of observational studies of serum 25-hydroxyvitamin D levels and colorectal, breast and prostate cancer and colorectal adenoma. *Int J Cancer* 2011;128:1414-1424.
- (135) Ma Y, Zhang P, Wang F, et al. Association between vitamin D and risk of colorectal cancer: a systematic review of prospective studies. *J Clin Oncol* 2011;29:3775-3782.
- (136) Yin L, Grandi N, Raum E, et al. Meta-analysis: longitudinal studies of serum vitamin D and colorectal cancer risk. *Aliment Pharmacol Ther* 2009;30:113-125.
- (137) Krishnan AV, Swami S, Feldman D. Vitamin D and breast cancer: inhibition of estrogen synthesis and signaling. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2010;121:343-348.
- (138) Kim Y, Je Y. Vitamin D intake, blood 25(OH)D levels, and breast cancer risk or mortality: a meta-analysis. *Br J Cancer* 2014;110:2772-2784.
- (139) Lee YH, Song GG. Vitamin D receptor FokI, BsmI, ApaI, and TaqI polymorphisms and the susceptibility to breast cancer: a meta-analysis. *Neoplasia* 2014.
- (140) Wang J, He Q, Shao YG, et al. Associations between vitamin D receptor polymorphisms and breast cancer risk. *Tumour Biol* 2013;34:3823-3830.
- (141) McKay JD, McCullough ML, Ziegler RG, et al. Vitamin D receptor polymorphisms and breast cancer risk: results from the National Cancer Institute Breast and Prostate Cancer Cohort Consortium. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2009;18:297-305.
- (142) Shan JL, Dai N, Yang XQ, et al. FokI polymorphism in vitamin D receptor gene and risk of breast cancer among Caucasian women. *Tumour Biol* 2014;35:3503-3508.
- (143) Anderson LN, Cotterchio M, Cole DE, et al. Vitamin D-related genetic variants, interactions with vitamin D exposure, and breast cancer risk among Caucasian women in Ontario. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2011;20:1708-1717.
- (144) McCullough ML, Stevens VL, Diver WR, et al. Vitamin D pathway gene polymorphisms, diet, and risk of postmenopausal breast cancer: a nested case-control study. *Breast Cancer Res* 2007;9:R9.

- (145) WCRF/AICR. Systematic Literature Review - Continuous Update Project Report: The Associations between Food, Nutrition and Physical Activity and the Risk of Breast Cancer. 2010. Washington, DC: AICR.
- (146) Touvier M, Deschasaux M, Montourcy M, et al. Determinants of Vitamin D Status in Caucasian Adults: Influence of Sun Exposure, Dietary Intake, Socio-Demographic, Lifestyle, Anthropometric and Genetic Factors. *J Invest Dermatol* 2015;135:378-388.
- (147) Wamberg L, Christiansen T, Paulsen SK, et al. Expression of vitamin D-metabolizing enzymes in human adipose tissue -- the effect of obesity and diet-induced weight loss. *Int J Obes (Lond)* 2013;37:651-657.
- (148) Engel P, Fagherazzi G, Boutten A, et al. Serum 25(OH) vitamin D and risk of breast cancer: a nested case-control study from the French E3N cohort. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2010;19:2341-2350.
- (149) Eliassen AH, Spiegelman D, Hollis BW, et al. Plasma 25-hydroxyvitamin D and risk of breast cancer in the Nurses' Health Study II. *Breast Cancer Res* 2011;13:R50.
- (150) Kuhn T, Kaaks R, Becker S, et al. Plasma 25-hydroxyvitamin D and the risk of breast cancer in the European prospective investigation into cancer and nutrition: a nested case-control study. *Int J Cancer* 2013;133:1689-1700.
- (151) Larose TL, Chen Y, Camargo CA, Jr., et al. Factors associated with vitamin D deficiency in a Norwegian population: the HUNT Study. *J Epidemiol Community Health* 2014;68:165-170.
- (152) Bjorneboe GE, Johnsen J, Bjorneboe A, et al. Effect of alcohol consumption on serum concentration of 25-hydroxyvitamin D3, retinol, and retinol-binding protein. *Am J Clin Nutr* 1986;44:678-682.
- (153) Dumitrescu RG, Shields PG. The etiology of alcohol-induced breast cancer. *Alcohol* 2005;35:213-225.
- (154) Oyesanmi O, Snyder D, Sullivan N, et al. Alcohol consumption and cancer risk: understanding possible causal mechanisms for breast and colorectal cancers. *Evid Rep Technol Assess (Full Rep)* 2010;1-151.
- (155) Schwartz GG, Whitlatch LW, Chen TC, et al. Human prostate cells synthesize 1,25-dihydroxyvitamin D3 from 25-hydroxyvitamin D3. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1998;7:391-395.
- (156) Swami S, Krishnan AV, Wang JY, et al. Dietary vitamin D(3) and 1,25-dihydroxyvitamin D(3) (calcitriol) exhibit equivalent anticancer activity in mouse xenograft models of breast and prostate cancer. *Endocrinology* 2012;153:2576-2587.
- (157) Rohan JN, Weigel NL. 1Alpha,25-dihydroxyvitamin D3 reduces c-Myc expression, inhibiting proliferation and causing G1 accumulation in C4-2 prostate cancer cells. *Endocrinology* 2009;150:2046-2054.
- (158) WCRF/AICR. Systematic Literature Review - Continuous Update Project Report: Diet, Nutrition, Physical Activity, and Prostate Cancer. 2014. Washington, DC: AICR.
- (159) Xu Y, He B, Pan Y, et al. Systematic review and meta-analysis on vitamin D receptor polymorphisms and cancer risk. *Tumour Biol* 2014;35:4153-4169.
- (160) Guo Z, Wen J, Kan Q, et al. Lack of association between vitamin D receptor gene FokI and BsmI polymorphisms and prostate cancer risk: an updated meta-analysis involving 21,756 subjects. *Tumour Biol* 2013;34:3189-3200.
- (161) Yin M, Wei S, Wei Q. Vitamin D Receptor Genetic Polymorphisms and Prostate Cancer Risk: A Meta-analysis of 36 Published Studies. *Int J Clin Exp Med* 2009;2:159-175.
- (162) Gilbert R, Bonilla C, Metcalfe C, et al. Associations of vitamin D pathway genes with circulating 25-hydroxyvitamin-D, 1,25-dihydroxyvitamin-D, and prostate cancer: a nested case-control study. *Cancer Causes Control* 2015;26:205-218.

- (163) Mondul AM, Shui IM, Yu K, et al. Genetic variation in the vitamin d pathway in relation to risk of prostate cancer--results from the breast and prostate cancer cohort consortium. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2013;22:688-696.
- (164) Shui IM, Mucci LA, Wilson KM, et al. Common genetic variation of the calcium-sensing receptor and lethal prostate cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2013;22:118-126.
- (165) Holt SK, Kwon EM, Koopmeiners JS, et al. Vitamin D pathway gene variants and prostate cancer prognosis. *Prostate* 2010;70:1448-1460.
- (166) Brandstedt J, Almquist M, Manjer J, et al. Vitamin D, PTH, and calcium and the risk of prostate cancer: a prospective nested case-control study. *Cancer Causes Control* 2012;23:1377-1385.
- (167) Hecht SS. Tobacco carcinogens, their biomarkers and tobacco-induced cancer. *Nat Rev Cancer* 2003;3:733-744.
- (168) Secretan B, Straif K, Baan R, et al. A review of human carcinogens--Part E: tobacco, areca nut, alcohol, coal smoke, and salted fish. *Lancet Oncol* 2009;10:1033-1034.
- (169) INCa. Incidence et mortalité estimées des cancers en France métropolitaine en 2012. 15-7-2013.
- (170) Hummel DM, Thiem U, Hobaus J, et al. Prevention of preneoplastic lesions by dietary vitamin D in a mouse model of colorectal carcinogenesis. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2013;136:284-288.
- (171) Pommergaard HC, Burcharth J, Rosenberg J, et al. Oral chemoprevention with acetyl salicylic Acid, vitamin D and calcium reduces the risk of tobacco carcinogen-induced bladder tumors in mice. *Cancer Invest* 2013;31:490-493.
- (172) Pommergaard HC, Burcharth J, Rosenberg J, et al. Chemoprevention with acetylsalicylic acid, vitamin D and calcium reduces risk of carcinogen-induced lung tumors. *Anticancer Res* 2013;33:4767-4770.
- (173) Afzal S, Bojesen SE, Nordestgaard BG. Low plasma 25-hydroxyvitamin D and risk of tobacco-related cancer. *Clin Chem* 2013;59:771-780.
- (174) Touvier M, Chan DS, Lau R, et al. Meta-analyses of vitamin D intake, 25-hydroxyvitamin D status, vitamin D receptor polymorphisms, and colorectal cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2011;20:1003-1016.
- (175) Mondul AM, Weinstein SJ, Moy KA, et al. Vitamin D-binding protein, circulating vitamin D and risk of renal cell carcinoma. *Int J Cancer* 2014;134:2699-2706.
- (176) Ordonez-Mena JM, Schottker B, Haug U, et al. Serum 25-hydroxyvitamin d and cancer risk in older adults: results from a large German prospective cohort study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2013;22:905-916.
- (177) Wang JB, Abnet CC, Chen W, et al. Association between serum 25(OH) vitamin D, incident liver cancer and chronic liver disease mortality in the Linxian Nutrition Intervention Trials: a nested case-control study. *Br J Cancer* 2013;109:1997-2004.
- (178) Amaral AF, Mendez-Pertuz M, Munoz A, et al. Plasma 25-hydroxyvitamin D(3) and bladder cancer risk according to tumor stage and FGFR3 status: a mechanism-based epidemiological study. *J Natl Cancer Inst* 2012;104:1897-1904.
- (179) Arem H, Weinstein SJ, Horst RL, et al. Serum 25-hydroxyvitamin D and risk of oropharynx and larynx cancers in Finnish men. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2011;20:1178-1184.
- (180) Abnet CC, Chen Y, Chow WH, et al. Circulating 25-hydroxyvitamin D and risk of esophageal and gastric cancer: Cohort Consortium Vitamin D Pooling Project of Rarer Cancers. *Am J Epidemiol* 2010;172:94-106.
- (181) Mondul AM, Weinstein SJ, Mannisto S, et al. Serum vitamin D and risk of bladder cancer. *Cancer Res* 2010;70:9218-9223.

- (182) Stolzenberg-Solomon RZ, Hayes RB, Horst RL, et al. Serum vitamin D and risk of pancreatic cancer in the prostate, lung, colorectal, and ovarian screening trial. *Cancer Res* 2009;69:1439-1447.
- (183) Chen W, Dawsey SM, Qiao YL, et al. Prospective study of serum 25(OH)-vitamin D concentration and risk of oesophageal and gastric cancers. *Br J Cancer* 2007;97:123-128.
- (184) Fu Y, Li J, Zhang Y. Polymorphisms in the vitamin D receptor gene and the lung cancer risk. *Tumour Biol* 2014;35:1323-1330.
- (185) Zheng XE, Lipka S, Li T, et al. The relationship of vitamin D status, smoking, and colorectal adenoma: a retrospective study in an ethnically diverse community. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2013;136:280-283.
- (186) Bai YH, Lu H, Hong D, et al. Vitamin D receptor gene polymorphisms and colorectal cancer risk: a systematic meta-analysis. *World J Gastroenterol* 2012;18:1672-1679.
- (187) Meng F, Ma P, Sui C, et al. The association between VDR polymorphisms and renal cell carcinoma susceptibility: a meta-analysis. *Tumour Biol* 2014;35:6065-6072.
- (188) Yao X, Zeng H, Zhang G, et al. The associated ion between the VDR gene polymorphisms and susceptibility to hepatocellular carcinoma and the clinicopathological features in subjects infected with HBV. *Biomed Res Int* 2013;2013:953974.
- (189) Zeljic K, Supic G, Stamenkovic RM, et al. Vitamin D receptor, CYP27B1 and CYP24A1 genes polymorphisms association with oral cancer risk and survival. *J Oral Pathol Med* 2012;41:779-787.
- (190) Jenab M, McKay J, Bueno-de-Mesquita HB, et al. Vitamin D receptor and calcium sensing receptor polymorphisms and the risk of colorectal cancer in European populations. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2009;18:2485-2491.
- (191) Mittal RD, Manchanda PK, Bhat S, et al. Association of vitamin-D receptor (Fok-I) gene polymorphism with bladder cancer in an Indian population. *BJU Int* 2007;99:933-937.
- (192) Hercberg S, Preziosi P, Briancon S, et al. A primary prevention trial using nutritional doses of antioxidant vitamins and minerals in cardiovascular diseases and cancers in a general population: the SU.VI.MAX study--design, methods, and participant characteristics. *Supplément en Vitamines et Minéraux Antioxydants. Control Clin Trials* 1998;19:336-351.
- (193) Hercberg S, Galan P, Preziosi P, et al. The SU.VI.MAX Study: a randomized, placebo-controlled trial of the health effects of antioxidant vitamins and minerals. *Arch Intern Med* 2004;164:2335-2342.
- (194) Le Moullec N, Deheeger M, Preziosi P, et al. Validation du manuel photo utilisé pour l'enquête alimentaire de l'étude SU.VI.MAX. [Validation of the food portion size booklet used in the SU.VI.MAX study] (in French). *Cah Nutr Diet* 1996;31:158-164.
- (195) Hercberg S. Table de composition SU.VI.MAX des aliments. [SU.VI.MAX food composition table] (in French). Paris: Les éditions INSERM/Economica; 2005.
- (196) WHO. ICD-10, International classification of diseases and related health problems. 10th revision. 2010. Geneva, Switzerland: World Health Organization.
- (197) Elfakir A, Ezzedine K, Latreille J, et al. Functional MC1R-gene variants are associated with increased risk for severe photoaging of facial skin. *J Invest Dermatol* 2010;130:1107-1115.
- (198) Ezzedine K, Malvy D, Mauger E, et al. Artificial and natural ultraviolet radiation exposure: beliefs and behaviour of 7200 French adults. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2008;22:186-194.
- (199) Ezzedine K, Mauger E, Latreille J, et al. Freckles and solar lentigines have different risk factors in Caucasian women. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2013;27:e345-e356.
- (200) Guinot C, Malvy D, Latreille J, et al. Sun exposure behaviour of a general adult population in France. In: Monduzzi editore, editor. *Skin and Environment - Perception and Protection* (Ring J, Weidinger S, Darsow U), 10th EADV Congress, Munich. Bologna: 2001:1099-1106.

- (201) Fitzpatrick TB. The validity and practicality of sun-reactive skin types I through VI. *Arch Dermatol* 1988;124:869-871.
- (202) Rakel A, Brossard JH, Patenaude JV, et al. Overproduction of an amino-terminal form of PTH distinct from human PTH(1-84) in a case of severe primary hyperparathyroidism: influence of medical treatment and surgery. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2005;62:721-727.
- (203) dbSNP. Short Genetic Variations. NCBI: 2015. From: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/>
- (204) Prioritization of SNPs in genotyping experiments based on functional properties. Pupasuite: 2015. From: <http://pupasuite.bioinfo.cipf.es/>
- (205) EMBL-EBI, Wellcome Trust Sanger Institute. Ensembl Genome Browser. Ensembl: 2015. From: <http://www.ensembl.org/index.html>
- (206) Hercberg S, Castetbon K, Czernichow S, et al. The Nutrinet-Sante Study: a web-based prospective study on the relationship between nutrition and health and determinants of dietary patterns and nutritional status. *BMC Public Health* 2010;10:242.
- (207) Touvier M, Mejean C, Kesse-Guyot E, et al. Comparison between web-based and paper versions of a self-administered anthropometric questionnaire. *Eur J Epidemiol* 2010;25:287-296.
- (208) Touvier M, Kesse-Guyot E, Mejean C, et al. Comparison between an interactive web-based self-administered 24 h dietary record and an interview by a dietitian for large-scale epidemiological studies. *Br J Nutr* 2011;105:1055-1064.
- (209) Vergnaud AC, Touvier M, Mejean C, et al. Agreement between web-based and paper versions of a socio-demographic questionnaire in the NutriNet-Sante study. *Int J Public Health* 2011;56:407-417.
- (210) Lassale C, Peneau S, Touvier M, et al. Validity of web-based self-reported weight and height: results of the Nutrinet-Sante study. *J Med Internet Res* 2013;15:e152.
- (211) Craig CL, Marshall AL, Sjoström M, et al. International physical activity questionnaire: 12-country reliability and validity. *Med Sci Sports Exerc* 2003;35:1381-1395.
- (212) IPAQ Group. Guidelines for Data Processing and Analysis of the International Physical Activity Questionnaire (IPAQ). 2005.
- (213) Lassale C, Castetbon K, Laporte F, et al. Validation of a Web-based, self-administered, non-consecutive-day dietary record tool against urinary biomarkers. *Br J Nutr* 2015;113:953-962.
- (214) Hercberg S. Table de composition des aliments, étude NutriNet-Santé. [Food composition table, NutriNet-Santé study] (in French). Paris: Les éditions INSERM/Economica; 2013.
- (215) INSEE. French National Census Data. Institut National de la Statistique et des Etudes Economiques: 2016. From: <http://www.insee.fr/fr/ppp/bases-de-donnees/recensement/populations-legales/default.asp?annee=2009>
- (216) Levine JA, Sorace M, Spencer J, et al. The indoor UV tanning industry: a review of skin cancer risk, health benefit claims, and regulation. *J Am Acad Dermatol* 2005;53:1038-1044.
- (217) Décret n° 2013-1261 du 27 décembre 2013 relatif à la vente et à la mise à disposition du public de certains appareils utilisant des rayonnements ultraviolets (in French). Legifrance: 2016. From: <https://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000028398316&dateTexte=20160331>
- (218) WHO/IARC. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Agents classified by the IARC Monographs 1-115. International Agency for Research on Cancer: 2016. From: <http://monographs.iarc.fr/ENG/Classification/index.php>
- (219) Schadendorf D, Fisher D.E., Garbe C, et al. Melanoma. *Nature Reviews Disease Primers* 2015;1:1-20.

- (220) Hashemipour S, Lalooha F, Zahir MS, et al. Effect of vitamin D administration in vitamin D-deficient pregnant women on maternal and neonatal serum calcium and vitamin D concentrations: a randomised clinical trial. *Br J Nutr* 2013;110:1611-1616.
- (221) Deschasaux M, Souberbielle JC, Andreeva VA, et al. Quick and Easy Screening for Vitamin D Insufficiency in Adults: A Scoring System to Be Implemented in Daily Clinical Practice. *Medicine (Baltimore)* 2016;95:e2783.
- (222) Pilz S, Kienreich K, Stuckler D, et al. Associations of Sun Exposure with 25-Hydroxyvitamin D and Parathyroid Hormone Levels in a Cohort of Hypertensive Patients: The Graz Endocrine Causes of Hypertension (GEOH) Study. *Int J Endocrinol* 2012;2012:732636.
- (223) Touvier M, Deschasaux M, Montourcy M, et al. Interpretation of plasma PTH concentrations according to 25OHD status, gender, age, weight status, and calcium intake: importance of the reference values. *J Clin Endocrinol Metab* 2014;99:1196-1203.
- (224) Hintzpeter B, Mensink GB, Thierfelder W, et al. Vitamin D status and health correlates among German adults. *Eur J Clin Nutr* 2008;62:1079-1089.
- (225) Daly RM, Gagnon C, Lu ZX, et al. Prevalence of vitamin D deficiency and its determinants in Australian adults aged 25 years and older: a national, population-based study. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2012;77:26-35.
- (226) Greene-Finestone LS, Berger C, de Groh M, et al. 25-Hydroxyvitamin D in Canadian adults: biological, environmental, and behavioral correlates. *Osteoporos Int* 2011;22:1389-1399.
- (227) Mason C, Xiao L, Imayama I, et al. Effects of weight loss on serum vitamin D in postmenopausal women. *Am J Clin Nutr* 2011;94:95-103.
- (228) Major JM, Graubard BI, Dodd KW, et al. Variability and reproducibility of circulating vitamin D in a nationwide U.S. population. *J Clin Endocrinol Metab* 2013;98:97-104.
- (229) Lucas JA, Bolland MJ, Grey AB, et al. Determinants of vitamin D status in older women living in a subtropical climate. *Osteoporos Int* 2005;16:1641-1648.
- (230) Giovannucci E, Liu Y, Rimm EB, et al. Prospective study of predictors of vitamin D status and cancer incidence and mortality in men. *J Natl Cancer Inst* 2006;98:451-459.
- (231) Berger C, Greene-Finestone LS, Langsetmo L, et al. Temporal trends and determinants of longitudinal change in 25-hydroxyvitamin D and parathyroid hormone levels. *J Bone Miner Res* 2012;27:1381-1389.
- (232) Bell NH, Godsen RN, Henry DP, et al. The effects of muscle-building exercise on vitamin D and mineral metabolism. *J Bone Miner Res* 1988;3:369-373.
- (233) Brock K, Huang WY, Fraser DR, et al. Low vitamin D status is associated with physical inactivity, obesity and low vitamin D intake in a large US sample of healthy middle-aged men and women. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2010;121:462-466.
- (234) Lee K. Sex-specific relationships between alcohol consumption and vitamin D levels: The Korea National Health and Nutrition Examination Survey 2009. *Nutr Res Pract* 2012;6:86-90.
- (235) McCullough ML, Weinstein SJ, Freedman DM, et al. Correlates of circulating 25-hydroxyvitamin D: Cohort Consortium Vitamin D Pooling Project of Rarer Cancers. *Am J Epidemiol* 2010;172:21-35.
- (236) Orwoll ES, Bevan L, Phipps KR. Determinants of bone mineral density in older men. *Osteoporos Int* 2000;11:815-821.
- (237) McCarty MF, Thomas CA. PTH excess may promote weight gain by impeding catecholamine-induced lipolysis-implications for the impact of calcium, vitamin D, and alcohol on body weight. *Med Hypotheses* 2003;61:535-542.
- (238) Turner RT, Aloia RC, Segel LD, et al. Chronic alcohol treatment results in disturbed vitamin D metabolism and skeletal abnormalities in rats. *Alcohol Clin Exp Res* 1988;12:159-162.

- (239) Continuous Update Project (CUP) Matrix. Summary of strong evidence from our analysis of worldwide research on diet, nutrition, physical activity & preventing cancer. WCRF/AICR: 2016. From: <http://www.wcrf.org/int/research-we-fund/continuous-update-project-findings-reports/continuous-update-project-cup-matrix>
- (240) Perna L, Haug U, Schottker B, et al. Public health implications of standardized 25-hydroxyvitamin D levels: a decrease in the prevalence of vitamin D deficiency among older women in Germany. *Prev Med* 2012;55:228-232.
- (241) Snellman G, Melhus H, Gedeberg R, et al. Seasonal genetic influence on serum 25-hydroxyvitamin D levels: a twin study. *PLoS One* 2009;4:e7747.
- (242) Zgaga L, Theodoratou E, Farrington SM, et al. Diet, environmental factors, and lifestyle underlie the high prevalence of vitamin D deficiency in healthy adults in Scotland, and supplementation reduces the proportion that are severely deficient. *J Nutr* 2011;141:1535-1542.
- (243) Dubuisson C, Lioret S, Touvier M, et al. Trends in food and nutritional intakes of French adults from 1999 to 2007: results from the INCA surveys. *Br J Nutr* 2010;103:1035-1048.
- (244) McCullough ML, Bostick RM, Mayo TL. Vitamin D gene pathway polymorphisms and risk of colorectal, breast, and prostate cancer. *Annu Rev Nutr* 2009;29:111-132.
- (245) Powe CE, Evans MK, Wenger J, et al. Vitamin D-binding protein and vitamin D status of black Americans and white Americans. *N Engl J Med* 2013;369:1991-2000.
- (246) Vimalaswaran KS, Berry DJ, Lu C, et al. Causal relationship between obesity and vitamin D status: bi-directional Mendelian randomization analysis of multiple cohorts. *PLoS Med* 2013;10:e1001383.
- (247) Vanlint S. Vitamin D and obesity. *Nutrients* 2013;5:949-956.
- (248) Aloia JF, Talwar SA, Pollack S, et al. Optimal vitamin D status and serum parathyroid hormone concentrations in African American women. *Am J Clin Nutr* 2006;84:602-609.
- (249) Carter GD, Carter R, Jones J, et al. How accurate are assays for 25-hydroxyvitamin D? Data from the international vitamin D external quality assessment scheme. *Clin Chem* 2004;50:2195-2197.
- (250) Joly D, Drueke TB, Alberti C, et al. Variation in serum and plasma PTH levels in second-generation assays in hemodialysis patients: a cross-sectional study. *Am J Kidney Dis* 2008;51:987-995.
- (251) La'ulu SL, Roberts WL. Performance characteristics of six intact parathyroid hormone assays. *Am J Clin Pathol* 2010;134:930-938.
- (252) Rejnmark L, Vestergaard P, Heickendorff L, et al. Determinants of plasma PTH and their implication for defining a reference interval. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2011;74:37-43.
- (253) el-Hajj FG, Klerman EB, Brown EN, et al. The parathyroid hormone circadian rhythm is truly endogenous--a general clinical research center study. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82:281-286.
- (254) Rejnmark L, Lauridsen AL, Vestergaard P, et al. Diurnal rhythm of plasma 1,25-dihydroxyvitamin D and vitamin D-binding protein in postmenopausal women: relationship to plasma parathyroid hormone and calcium and phosphate metabolism. *Eur J Endocrinol* 2002;146:635-642.
- (255) Smith ER, Cai MM, McMahan LP, et al. Biological variability of plasma intact and C-terminal FGF23 measurements. *J Clin Endocrinol Metab* 2012;97:3357-3365.
- (256) Souberbielle JC, Lawson-Body E, Hammadi B, et al. The use in clinical practice of parathyroid hormone normative values established in vitamin D-sufficient subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88:3501-3504.
- (257) Koumakis E, Souberbielle JC, Sarfati E, et al. Bone mineral density evolution after successful parathyroidectomy in patients with normocalcemic primary hyperparathyroidism. *J Clin Endocrinol Metab* 2013;98:3213-3220.

- (258) Souberbielle JC, Boutten A, Carlier MC, et al. Inter-method variability in PTH measurement: implication for the care of CKD patients. *Kidney Int* 2006;70:345-350.
- (259) Holmes DT, Levin A, Forer B, et al. Preanalytical influences on DPC IMMULITE 2000 intact PTH assays of plasma and serum from dialysis patients. *Clin Chem* 2005;51:915-917.
- (260) Speeckaert M, Huang G, Delanghe JR, et al. Biological and clinical aspects of the vitamin D binding protein (Gc-globulin) and its polymorphism. *Clin Chim Acta* 2006;372:33-42.
- (261) SAS. The MULTTEST Procedure. Details: p-Values adjustments. SAS/STAT(R) 9 22 User's Guide: 2015. From: http://support.sas.com/documentation/cdl/en/statug/63347/HTML/default/viewer.htm#statug_multtest_sect014.htm#statug_multtest_multtestdfdrmethods
- (262) Benjamini Y, Hochberg Y. Controlling the False Discovery Rate: a Practical and Powerful Approach to Multiple Testing. *J R Statist Soc B* 1995;57:289-300.
- (263) Shapses SA, Lee EJ, Sukumar D, et al. The effect of obesity on the relationship between serum parathyroid hormone and 25-hydroxyvitamin D in women. *J Clin Endocrinol Metab* 2013;98:E886-E890.
- (264) Vieth R. How to optimize vitamin D supplementation to prevent cancer, based on cellular adaptation and hydroxylase enzymology. *Anticancer Res* 2009;29:3675-3684.
- (265) Wagner D, Hanwell HE, Schnabl K, et al. The ratio of serum 24,25-dihydroxyvitamin D(3) to 25-hydroxyvitamin D(3) is predictive of 25-hydroxyvitamin D(3) response to vitamin D(3) supplementation. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2011;126:72-77.
- (266) Ching S, Kashinkunti S, Niehaus MD, et al. Mammary adipocytes bioactivate 25-hydroxyvitamin D(3) and signal via vitamin D(3) receptor, modulating mammary epithelial cell growth. *J Cell Biochem* 2011;112:3393-3405.
- (267) Abbas S, Linseisen J, Slinger T, et al. Serum 25-hydroxyvitamin D and risk of post-menopausal breast cancer--results of a large case-control study. *Carcinogenesis* 2008;29:93-99.
- (268) Abbas S, Chang-Claude J, Linseisen J. Plasma 25-hydroxyvitamin D and premenopausal breast cancer risk in a German case-control study. *Int J Cancer* 2009;124:250-255.
- (269) Chhim AS, Fassier P, Latino-Martel P, et al. Prospective association between alcohol intake and hormone-dependent cancer risk: modulation by dietary fiber intake. *Am J Clin Nutr* 2015;102:182-189.
- (270) Arnaud J, Constans J. Affinity differences for vitamin D metabolites associated with the genetic isoforms of the human serum carrier protein (DBP). *Hum Genet* 1993;92:183-188.
- (271) Nagasawa H, Sasaki H, Uto Y, et al. Association of the macrophage activating factor (MAF) precursor activity with polymorphism in vitamin D-binding protein. *Anticancer Res* 2004;24:3361-3366.
- (272) Yamamoto N, Homma S. Vitamin D3 binding protein (group-specific component) is a precursor for the macrophage-activating signal factor from lysophosphatidylcholine-treated lymphocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1991;88:8539-8543.
- (273) Willett WC, Howe GR, Kushi LH. Adjustment for total energy intake in epidemiologic studies. *Am J Clin Nutr* 1997;65:1220S-1228S.
- (274) Felsenfeld AJ, Rodriguez M, Aguilera-Tejero E. Dynamics of parathyroid hormone secretion in health and secondary hyperparathyroidism. *Clin J Am Soc Nephrol* 2007;2:1283-1305.
- (275) Xu Y, Shao X, Yao Y, et al. Positive association between circulating 25-hydroxyvitamin D levels and prostate cancer risk: new findings from an updated meta-analysis. *J Cancer Res Clin Oncol* 2014;140:1465-1477.

- (276) Tuohimaa P, Tenkanen L, Ahonen M, et al. Both high and low levels of blood vitamin D are associated with a higher prostate cancer risk: a longitudinal, nested case-control study in the Nordic countries. *Int J Cancer* 2004;108:104-108.
- (277) Kristal AR, Till C, Song X, et al. Plasma vitamin D and prostate cancer risk: results from the Selenium and Vitamin E Cancer Prevention Trial. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2014;23:1494-1504.
- (278) Meyer HE, Robsahm TE, Bjorge T, et al. Vitamin D, season, and risk of prostate cancer: a nested case-control study within Norwegian health studies. *Am J Clin Nutr* 2013;97:147-154.
- (279) Skaaby T, Husemoen LL, Thuesen BH, et al. Prospective population-based study of the association between serum 25-hydroxyvitamin-D levels and the incidence of specific types of cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2014;23:1220-1229.
- (280) Park SY, Murphy SP, Wilkens LR, et al. Calcium, vitamin D, and dairy product intake and prostate cancer risk: the Multiethnic Cohort Study. *Am J Epidemiol* 2007;166:1259-1269.
- (281) Li H, Stampfer MJ, Hollis JB, et al. A prospective study of plasma vitamin D metabolites, vitamin D receptor polymorphisms, and prostate cancer. *PLoS Med* 2007;4:e103.
- (282) Albanes D, Mondul AM, Yu K, et al. Serum 25-hydroxy vitamin D and prostate cancer risk in a large nested case-control study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2011;20:1850-1860.
- (283) Fedirko V, Riboli E, Bueno-de-Mesquita HB, et al. Prediagnostic circulating parathyroid hormone concentration and colorectal cancer in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition cohort. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2011;20:767-778.
- (284) McCarty MF. Parathyroid hormone may be a cancer promoter - an explanation for the decrease in cancer risk associated with ultraviolet light, calcium, and vitamin D. *Med Hypotheses* 2000;54:475-482.
- (285) Ritchie CK, Thomas KG, Andrews LR, et al. Effects of the calciotropic peptides calcitonin and parathyroid hormone on prostate cancer growth and chemotaxis. *Prostate* 1997;30:183-187.
- (286) Bikle DD. Growth hormone/insulin-like growth factor-1/PTH axis in bone. *J Bone Miner Res* 2008;23:581-583.
- (287) Gasperi M, Cecconi E, Grasso L, et al. GH secretion is impaired in patients with primary hyperparathyroidism. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87:1961-1964.
- (288) Price AJ, Allen NE, Appleby PN, et al. Insulin-like growth factor-I concentration and risk of prostate cancer: results from the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2012;21:1531-1541.
- (289) Roddam AW, Allen NE, Appleby P, et al. Insulin-like growth factors, their binding proteins, and prostate cancer risk: analysis of individual patient data from 12 prospective studies. *Ann Intern Med* 2008;149:461-468.
- (290) Welsh J. Cellular and molecular effects of vitamin D on carcinogenesis. *Arch Biochem Biophys* 2012;523:107-114.
- (291) Kutuzova GD, DeLuca HF. 1,25-Dihydroxyvitamin D3 regulates genes responsible for detoxification in intestine. *Toxicol Appl Pharmacol* 2007;218:37-44.
- (292) Ochs-Balcom HM, Cicek MS, Thompson CL, et al. Association of vitamin D receptor gene variants, adiposity and colon cancer. *Carcinogenesis* 2008;29:1788-1793.
- (293) Liu Z, Calderon JI, Zhang Z, et al. Polymorphisms of vitamin D receptor gene protect against the risk of head and neck cancer. *Pharmacogenet Genomics* 2005;15:159-165.
- (294) Kaabachi W, Kaabachi S, Rafrafi A, et al. Association of vitamin D receptor FokI and Apal polymorphisms with lung cancer risk in Tunisian population. *Mol Biol Rep* 2014;41:6545-6553.

- (295) Kostner K, Denzer N, Muller CS, et al. The relevance of vitamin D receptor (VDR) gene polymorphisms for cancer: a review of the literature. *Anticancer Res* 2009;29:3511-3536.
- (296) Mahmoudi T, Karimi K, Arkani M, et al. Lack of associations between Vitamin D metabolism-related gene variants and risk of colorectal cancer. *Asian Pac J Cancer Prev* 2014;15:957-961.
- (297) Poynter JN, Jacobs ET, Figueiredo JC, et al. Genetic variation in the vitamin D receptor (VDR) and the vitamin D-binding protein (GC) and risk for colorectal cancer: results from the Colon Cancer Family Registry. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2010;19:525-536.
- (298) Castetbon K, Vernay M, Malon A, et al. Dietary intake, physical activity and nutritional status in adults: the French nutrition and health survey (ENNS, 2006-2007). *Br J Nutr* 2009;102:733-743.
- (299) Bu FX, Armas L, Lappe J, et al. Comprehensive association analysis of nine candidate genes with serum 25-hydroxy vitamin D levels among healthy Caucasian subjects. *Hum Genet* 2010;128:549-556.
- (300) Lundgren E, Hagstrom EG, Lundin J, et al. Primary hyperparathyroidism revisited in menopausal women with serum calcium in the upper normal range at population-based screening 8 years ago. *World J Surg* 2002;26:931-936.
- (301) Jorde R, Sundsfjord J, Bonna KH. Determinants of serum calcium in men and women. The Tromso Study. *Eur J Epidemiol* 2001;17:1117-1123.
- (302) Fassier P, Chhim AS, Andreeva VA, et al. Seeking health and nutrition-related information on the Internet in a large population of French adults: results of the NutriNet-Santé e-cohort study. *Br J Nutr* 2016.
- (303) Knudsen CS, Nexø E, Hojskov CS, et al. Analytical validation of the Roche 25-OH Vitamin D Total assay. *Clin Chem Lab Med* 2012;50:1965-1968.
- (304) Stepman HC, Vanderroost A, Van UK, et al. Candidate reference measurement procedures for serum 25-hydroxyvitamin D3 and 25-hydroxyvitamin D2 by using isotope-dilution liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Clin Chem* 2011;57:441-448.
- (305) Autier P, Boniol M, Pizot C, et al. Vitamin D status and ill health: a systematic review. *Lancet Diabetes Endocrinol* 2014;2:76-89.
- (306) Rothman KJ. No adjustments are needed for multiple comparisons. *Epidemiology* 1990;1:43-46.
- (307) Donnenfeld M, Julia C, Kesse-Guyot E, et al. Prospective association between cancer risk and an individual dietary index based on the British Food Standards Agency Nutrient Profiling System. *Br J Nutr* 2015;114:1702-1710.

Annexes

Annexe 1 Texte intégral, article « Connaissances de la vitamine D »	166
Annexe 2 Texte intégral, article « Déterminants du statut en vitamine D ».....	182
Annexe 3 Texte intégral, article « Score de prédiction d’une insuffisance en vitamine D ».....	193
Annexe 4 Texte intégral, article « Seuils de référence pour la PTH »	202
Annexe 5 Texte intégral, article « Vitamine D et risque de cancer du sein ».....	210
Annexe 6 Texte intégral, article « Vitamine D et risque de cancer de la prostate ».....	220
Annexe 7 Texte intégral, article « Vitamine D et risque de cancers liés au tabac ».....	230
Annexe 8 Questionnaire « Connaissances de la vitamine D », retranscription et captures d’écran, cohorte NutriNet-Santé, 2012-2015	239

What do people know and believe about vitamin D: results from 60,000 French adults

Mélanie Deschasaux¹, Jean-Claude Souberbielle², Valentin Partula¹, Lucie Lecuyer¹, Rebeca Gonzalez¹, Bernard Srour¹, Christiane Guinot³, Denis Malvy⁴, Paule Latino-Martel¹, Nathalie Druesne-Pecollo¹, Pilar Galan¹, Serge Hercberg^{1,5}, Emmanuelle Kesse-Guyot¹, Philippine Fassier¹, Khaled Ezzedine^{6*}, Mathilde Touvier^{1*} (*equally contributed)

Affiliations:

¹ Sorbonne Paris Cité Epidemiology and Statistics Research Center (CRESS), Inserm U1153, Inra U1125, Cnam, Paris 13 University, Nutritional Epidemiology Research Team (EREN), 93017 Bobigny Cedex, France

² Department of Physiology, Necker Hospital, Inserm U845, 75005 Paris, France

³ Computer Science Laboratory, François Rabelais University, 37000 Tours, France

⁴ Dermatology Department, Saint André Hospital, 33000 Bordeaux, France

⁵ Public Health Department, Avicenne Hospital, 93000 Bobigny, France

⁶ Dermatology Department, Henri Mondor Hospital, 94010 Créteil, France

Corresponding author: Mélanie Deschasaux, Sorbonne Paris Cité Epidemiology and Statistics Research Center (CRESS), Nutritional Epidemiology Research Team (EREN), Inserm U1153, Inra U1125, Cnam, Paris 13 University, SMBH Paris 13, 74, rue Marcel Cachin, F-93017, Bobigny Cedex, France; e-mail:m.deschasaux@eren.smbh.univ-paris13.fr; Telephone number: +33 1 48 38 89 44.

ABSTRACT

Importance: Recently, people have been exposed to a lot of information regarding vitamin D, with evidence suggesting that vitamin D may be involved in numerous health conditions and concerns towards the high prevalence of vitamin D insufficiency.

Objective: Our objective was to assess knowledge and beliefs regarding vitamin D in a large adult sample.

Design: Cross-sectional study (2009-2015)

Setting: Population-based study, general community

Participants: 59,273 French participants from the NutriNet-Santé cohort

Exposure: A questionnaire was administered starting 2012 to investigate several aspects of vitamin D-related knowledge (e.g. source of information, sources, health effects, opinion regarding vitamin D status).

Main Outcome(s) and Measure(s): Answers (N, %) were weighted according to the French socio-demographic distribution and were compared across individual characteristics (e.g. sex, age, educational level, income, measured vitamin D status), using χ^2 tests.

Results: While virtually all participants heard of vitamin D (92%), they did not always correctly cited vitamin D sources (e.g. sun exposure: 72%, fatty fish: 61%) or established health effects (bone health: 62-78%) but still mentioned incorrect sources and unproven health effects (e.g. cancer, cardiovascular or cognitive diseases). Besides, 6% considered tanning booths/sunbeds as sources of vitamin D. Overall better knowledge was observed in women, better educated and higher income individuals and when physicians were the source of information. Concern with vitamin D status and actual insufficiency were largely inconsistent: e.g. only 16% of those with insufficient vitamin D status thought they were insufficient.

Conclusions and relevance: This study was the first in Europe in a large adult sample to provide detailed information on vitamin D-related knowledge and beliefs. Our results highlighted physicians and media as information-providers, confusion regarding proven/unproven health effects and sources of vitamin D, and a strong inconsistency between participants' vitamin D status and their opinion about it. These results stress the need for guide books regarding vitamin D for the public but also for health care professionals and could contribute to improve the communication regarding vitamin D from practitioners and public health institutions.

INTRODUCTION

What do people know or think they know about vitamin D? Recently, a lot of attention has been given to vitamin D (VitD). VitD has been known for a long time in the scientific community for its involvement in calcium homeostasis and bone health but the discovery that a vast majority of tissues are responsive to this molecule led to consider that VitD may play a key role in numerous health conditions. VitD is synthesized endogenously following skin exposure to the sun (UVB, 290-315 nm) and may also be provided by dietary sources, drugs and supplements¹⁻³.

With the increasing indoor lifestyle in developed countries, VitD insufficiency (VitD status <20ng/ml⁴) has become a great public health concern since its prevalence is quite high: 42.5% in France⁵, around 35-70% in Europe⁶ and 36% in the US². Numerous studies have been carried out regarding VitD (30,000+ hits on Pubmed for the last decade) and its association with multiple health outcomes, as illustrated in a recent “umbrella review”⁷ that identified 137 health outcomes covered by systematic literature reviews (n=107) and meta-analyses of observational studies (n=74) and of randomized controlled trials (n=87). However, thus far, health outcomes for which a role of VitD has been clearly established are limited: the US Institute of Medicine considered that the only established association is between VitD and bone health⁴, and the European Commission authorized claims mostly linking VitD⁸ to calcium homeostasis, cell division, immune system and bone-related outcomes. The levels of proof regarding other health outcomes (e.g. cancer, cardiometabolic diseases, cognitive disorders) remain insufficient⁷. In contrast, Caulfield et al.⁹ recently showed that, in the media, VitD has mostly been considered as a “miracle vitamin” and associated with a wide variety of health outcomes, regardless the actual level of evidence.

People are exposed to a lot of information from several sources, thus, one may wonder what they really know about VitD and how they understand its role in health. Such information would be of interest for practitioners and public health institutions to improve the communication regarding VitD. Previous studies performed in several countries (mostly targeting specific groups) showed that VitD-related knowledge was limited¹⁰⁻²⁷. To our knowledge, no study was performed in Europe in a large sample from the general population and few linked VitD-related knowledge to various individual characteristics (including measured VitD status).

Thus, the objective of the present work was to assess several aspects of VitD-related knowledge (VitD sources, health effects, source of information...) in 60,000 French adults, across a wide range of individual characteristics.

METHODS

Study population

The NutriNet-Santé study is a large ongoing web-based cohort launched in France in 2009 focusing on the associations between nutrition and health and involving participants aged 18+ with Internet access recruited from the general population²⁸. All questionnaires are completed online using a dedicated website (www.etude-nutrinet-sante.fr). The NutriNet-Santé study is conducted according to the Declaration of Helsinki guidelines and was approved by the Institutional Review Board of the French Institute for Health and Medical Research (IRB Inserm n°0000388FWA00005831) and the "Commission Nationale de l'Informatique et des Libertés" (CNIL n°908450/n°909216). Electronic informed consent is obtained from each participant (EudraCT no. 2013-000929-31).

Data collection

At baseline and each year thereafter, participants completed a set of five questionnaires on socio-demographic and lifestyle characteristics, anthropometrics, dietary intake, physical activity, and health status. Drugs and/or dietary supplement use (including those containing VitD) was assessed in a detailed questionnaire 2 months after baseline and in all yearly health questionnaires. As

described elsewhere²⁹, a detailed questionnaire collected information on usual sun exposure and Fitzpatrick phototype, and VitD status (total 25-hydroxyvitamin D concentration) was measured for a subsample of 860 participants.

A specific questionnaire was sent to all participants starting May 2012 to assess their VitD-related knowledge. Participants were asked if they ever heard of VitD, what were their sources of information, what were the sources of VitD, what were the health effects of VitD and whether they thought that their VitD status was too low (complete questionnaire in **eTable1**).

Statistical analyses

Data were weighted in order to obtain a representative sample of the French population in terms of socio-demographic distribution. Sex-specific normalized weighting was calculated using the SAS macro %CALMAR and the 2009 national Census INSEE data³⁰ on age, educational level, area of residence, occupational category, marital status and presence of children in the household.

Answers to the VitD questionnaire (N, %) were compared (χ^2 tests) according to sociodemographic characteristics (sex, age, educational level, monthly income per household unit, living area (Northern or Southern France), size of the urban unit), VitD supplement/drug use, sources of information regarding VitD, VitD status, declared sun exposure and Fitzpatrick phototype. For all analyses (except those for the comparison according to age and sex), unconditional logistic regression models adjusted for age and sex were used.

Given the size of the study sample, even small differences were found to be of statistical significance. Therefore, for interpretation purposes, we considered inter-groups differences $\geq 5\%$. P-value <0.05 was considered statistically significant. All tests were two-sided. Analyses were carried out with SAS 9.3 (SAS Institute Inc, Cary, NC, USA).

RESULTS

116,018 participants received the non-mandatory VitD questionnaire online until January 2015 among whom 60,825 answered it (response rate: 52%). 1552 participants were excluded because of missing/unsuitable data in variables used for statistical weighting, leaving 59,273 participants for analyses. Individual characteristics' distribution in our population (before and after weighting) is shown in **Table 1**.

VitD knowledge and sources of information (Table 2, eTable 2)

Overall, 92% of participants declared that they already heard of VitD. This proportion was higher in women, in older participants, in those with a higher educational level and a higher monthly income.

Main sources of information were physicians (41%), television (39%) and magazines (39%). Physicians were more cited by women, older participants and those with a lower educational level. The media were more cited by men and a distinction was observed between television (more cited by younger individuals and those with lower education or income) and newspapers and radio (more cited by older subjects and those with higher income). School/university was more frequently quoted by younger, better educated subjects and those with higher income.

Opinion regarding VitD status

24% of participants were concerned that their VitD status may be too low (**Table 2**). This proportion was higher in women, in participants living in Northern France (25% vs. 19% in Southern France, $P<0.0001$, not tabulated), in urban communities, (28% vs. 20% in rural communities, $P<0.0001$, not tabulated) and in those reporting (very) low sun exposure (27% vs. 19% for high sun exposure, $P<0.0001$, not tabulated). This proportion reached 47% in those who ever took VitD supplements/drugs. Participants with a fair skin (phototype I/II) were more concerned regarding their VitD status than those with a darker skin (phototype V/VI, 30% vs. 17%, $P<0.0001$, not tabulated).

Among participants with available plasma 25OHD concentration (N=700, **Table 3**, mean 25OHD concentration=24.5±11.8ng/ml), only 30% of those who believed that their VitD status was too low did have an insufficient VitD status (<20ng/ml) and only 16% of those with an actual VitD insufficiency were concerned with their VitD status.

VitD sources (Table 4, eTable 3)

Sun exposure was cited by 72% of participants. This source was better known by women, participants with higher educational level and income, and with adequate VitD status (83% vs. 75% in those with insufficient status, P=0.01, not tabulated).

62% cited drugs containing VitD, 61% fatty fish, 55% cod liver oil and 51% VitD-fortified dairy products. Women had a better knowledge of these sources. Younger participants, those with a higher educational level and income were more likely to cite fortified dairy products and supplements/drugs containing VitD and less likely to mention traditional dietary sources. Participants who ever took VitD supplements/drugs had a better knowledge of VitD sources overall, so did participants who were concerned that their VitD status was too low.

While the main sources of VitD were insufficiently known, participants also cited olive oil (18%), white fish (11%), antioxidant supplements (7%) or chicken (4%), showing some existing confusion.

Overall, 6% of participants agreed that tanning booths/sunbeds from tanning salons can provide VitD and especially younger participants, those with a higher educational level and participants who declared a high usual sun exposure (9% vs. 5% for moderate or low sun exposure, P<0.0001, not tabulated).

Role of VitD in several health conditions (Table 5, eTable 4)

Only 78% of participants associated VitD to healthy bones, 74% to osteoporosis and 62% to rickets. These proportions were higher in women, older participants and those who already took VitD supplements/drugs. Participants who acknowledged a role of VD in pregnancy were only 40%, and especially women, younger participants, those with a higher educational level, and those who took VitD supplements/drugs.

While these established roles of VitD were not well known, a substantial proportion of participants associated VitD with several other health conditions for which a consensus has not been reached such as skin cancers (33%), skin diseases (26%), other cancers (25%), infections (25%), or psychiatric diseases (11%).

Knowledge/beliefs regarding VitD according to the source of information (eTable 5)

Participants who learnt about VitD with their physician were more likely to have a better knowledge of VitD sources and proven health effects. Participants who learnt about VitD with another health care professional (e.g. pharmacist, dietitian, dentist, nurse, etc.) or at school/university also answered correctly for VitD sources and proven health effects but also tended to associate VitD to other health conditions with no consensus. Finally, participants who learnt about VitD in the media were also more likely to believe in a role of VitD in health conditions with no consensus.

All results remained statistically significant after Bonferroni correction to take into account multiple testing.

DISCUSSION

To our knowledge, this study was the first in Europe to assess VitD-related knowledge in a large sample from the general population. While sources and established health effects of VitD were not

always cited by participants, substantial proportions of subjects mentioned incorrect sources and unproven health effects. Knowledge was strongly influenced by the source of information and sociodemographic and economic factors. Interestingly, a high inconsistency was observed between what people think about their VitD status and their actual status.

Although 30% of participants did not mention sun exposure (primary source of VitD³¹), this source was the most frequently cited, consistently with previous studies in which high proportions of people associated sunshine to VitD^{10;15;19;20;23;25;26}.

Tanning booths/sunbeds have been promoted by the industry as a VitD provider³². 6% of our population agreed with this argument, especially the youngest. This is of concern since these devices also are strongly associated with skin aging/skin cancer risk^{32;33}. Thus, they should not be recommended as a way to get VitD, with an additional caution for young people (susceptible group for skin cancer)³⁴.

Dietary sources of VitD mainly include cod liver oil, fatty fish, eggs, offal, dairy products (especially if fortified) and some mushrooms, although the contribution of these sources to VitD status is low compared to sun exposure^{31;35}. In our population, as in previous studies^{10;12;19;20;23-27}, knowledge regarding VitD dietary sources was insufficient and contrasted, depending on the sources. Fatty fish, cod liver oil or fortified dairy products were known by 50-60% of our participants while regular dairy products, offal or eggs were only known by 20-30%. Some confusion was also observed since 18% of participants cited olive oil and 5-10% lean fish or chicken while they contain no/very few VitD. Incorrect VitD sources such as fruits, vegetables, soya or rice were also cited in previous studies^{19;23;25;27}.

Thus far, even though results from observational studies have been promising (yet inconsistent) regarding non-musculoskeletal effects of VitD, results from randomized controlled trials have failed to confirm them⁷, leaving musculoskeletal health as the only established health effect (US Institute of Medicine⁴). This was questioned by the US Endocrine Society which considered that the role of VitD in other health conditions should be taken into account when formulating recommendations^{36;37}. Besides, in this context of rapid growth of knowledge, media have circulated a lot of information on VitD and often failed to balance their assertions according to the current level of evidence⁹. This has resulted in some confusion regarding VitD health effects, in both the public and health professionals^{11;19}, as reflected by the present study.

The established role of VitD in bone health was known by a majority of participants but ignored by 22-38% of them. These were also identified as main VitD health effects in previous studies^{10;15-17;19;20;25;27}.

Although VitD effects on pre-eclampsia and gestational diabetes are still under research, its role in the prevention of neonatal hypocalcaemia has been recognized and VitD supplementation of pregnant women is recommended in France^{38;39}. However, in our population only 40% of participants knew about the role of VitD in pregnancy.

Participants also attributed a role to VitD in other health conditions such as cancers, cardiovascular or cognitive diseases, as observed in previous studies^{10;17;19;25-27}, whereas the current level of evidence does not allow definite answers.

Believing that VitD is involved in all sorts of health conditions may lead participants to search for VitD supplementation which should only target at-risk individuals^{4;40}.

About a quarter of our population thought they had an insufficient VitD status. Corresponding proportions in previous studies were 9% (Australia) and 6% (New Zealand). Surprisingly, while participants with darker skin are more at risk of insufficiency^{1;29}, they were the least concerned with their VitD status in our study, consistently with an Australian study on general practitioners¹³ in which dark skin was not considered as a main risk factor for VitD insufficiency.

Prevalence of VitD insufficiency (25OHD <20ng/mL) was about 40% in our subsample. Interestingly, concern with VitD status and actual insufficiency were largely inconsistent: only 16% of those with an insufficient VitD status thought they were insufficient, and 30% of those who were concerned with their VitD status were actually insufficient.

Physicians were the first source of information in our population, especially for women and older participants, i.e. two groups at higher risk for VitD insufficiency or bone-related disorders. This source was associated with better knowledge regarding VitD. Previous studies have shown that physicians are a major source of VitD-related information^{10;14;19;22;26}. This highlights the important role played by physicians (trusted source of information) in the education of their patients^{11;14;16;17}.

However, people usually rely on diversified sources of information¹¹. When all types of media were grouped, they were cited by 63% of our participants (men especially), becoming the leading source of information, as observed in previous studies^{14;19;26;27}. In our study, participants who learnt about VitD in the media (all types) were more likely to associate VitD with unproven health effects. This may result from the confusing message expressed by some media^{9;14}.

In this study, women had a more accurate knowledge than men regarding VitD sources and the role of VitD in bone health and pregnancy. They were also more concerned with their VitD status. This was previously observed^{17;24;26;27} and may be due to the fact that women usually show more interest in nutrition-and-health-related issues but also that, as an “at-risk” group for VitD insufficiency and bone-related disorders, they may be more informed by their physicians, as observed in our study.

In addition, an age and/or generational effect were observed in our study as in previous ones^{17;19;26;27}. Older participants had a better knowledge of cod liver oil and rickets, in line with a London study¹⁹ and consistent with the fact that, as children, older people used to receive cod liver oil at school to prevent rickets, whereas the term “rickets” may not even be known by younger participants. Older participants (“at-risk” group) were also more likely to have heard of VitD with their physician which may have resulted in their better knowledge regarding its role in bone health. In contrast, younger participants (and especially women) as expected knew better about a role of VitD in pregnancy. They were also more likely to have heard of VitD at school/university. Older participants more frequently cited classic dietary sources of VitD and younger ones cited supplements and fortified dairy products.

As in previous studies^{17;27}, a higher socio-economic position was also associated with a better VitD-related knowledge overall.

Some limitations should be acknowledged. First, our population was composed of volunteers involved in a nutrition-and-health cohort. Therefore, the extrapolation of our results to the entire French population needs caution since our results may overestimate VitD-related knowledge. However, this large and diverse population sample was weighted to be representative of the French adult population in terms of socio-demographic and economic characteristics. Second, this was a multiple-choice questionnaire so that all answers were prompted. This may have induced some hindsight bias and an overestimation of VitD-related knowledge^{17;26}. Last, participants did not have the opportunity to freely answer. For example, in the sources of information regarding VitD, “Internet” was not a proposed choice whereas it has been shown to be an important source of information on nutrition and health⁴¹.

In a context where VitD arouses considerable interest in the public and the medical and scientific community, this study, the first in Europe in such a large sample, provided detailed information on knowledge and beliefs of a general adult population regarding this particular nutrient. These results highlighted the physicians, but also the media as key information-providers on this topic, and existing confusion regarding proven/unproven health effects and sources of VitD. These findings were clearly modulated by age/generational and socioeconomic factors (overall better knowledge in women, better educated and higher income individuals). Besides, a strong inconsistency was observed between participants’ opinion on their VitD status and actual insufficiency.

Guide books regarding VitD should be made available for the public and for health care professionals. They should include VitD basics (sources, role in calcium homeostasis), its health effects (weighting according to the current scientific consensus), duration of sun exposure needed to produce VitD (compatible with skin cancer prevention), and risk factors for insufficiency (which can be summarized with a VitD insufficiency prediction score²⁹). This could contribute to improve the VitD status in the population.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors thank all the volunteers of the NutriNet-Santé cohort. We extend special thanks to Younes Esseddik, Paul Flanzy, Yasmina Chelghoum, Than Duong Van and Mac Rakotondrazafy (computer scientists); and Nathalie Arnault, Véronique Gourlet, Dr. Fabien Szabo, Charlie Ménard, Laurent Bourhis, and Stephen Besseau (data-manager/biostatisticians) for their technical contribution to the NutriNet-Santé study. We also thank Dr. Nathalie Charnaux, MD, PhD and Dr. Angela Sutton, MD, PhD who performed the measurement of plasma 25-hydroxyvitamin D concentration.

The authors' contributions were as follow – MD, KE and MT: designed the research; MT, PG, SH: conducted the research; MD: performed statistical analysis; MD and MT: wrote the paper; JCS, VP, LL, RG, BS, CG, DM, PLM, NDP, PG, SH, EKG, PF and KE: contributed to the data interpretation and revised each draft for important intellectual content. All authors read and approved the final manuscript. MD and MT had full access to all the data in the study and take responsibility for the integrity of the data and the accuracy of the data analysis.

The authors have no conflict of interest to disclose.

Mélanie Deschasaux and Philippine Fassier were funded by PhD grants from the Cancéropôle Ile-de-France (public funding from the Région Ile-de-France). The NutriNet-Santé study was supported by the following public institutions: Ministère de la Santé, Institut de Veille Sanitaire (InVS), Institut National de la Prévention et de l'Éducation pour la Santé (INPES), Fondation pour la Recherche Médicale (FRM), Institut de Recherche en Santé Publique (IRESP), Fondation ARC pour la recherche sur le cancer, Région Ile-de-France (CORDDIM), Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (INSERM), Institut National de la Recherche Agronomique (INRA), Conservatoire National des Arts et Métiers (CNAM) and Université Paris 13. The funders had no role in the design, implementation, analysis, or interpretation of the data.

REFERENCES

- (1) Holick MF. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med* 2007;357:266-281.
- (2) Hossein-Nezhad A, Holick MF. Vitamin D for health: a global perspective. *Mayo Clin Proc* 2013;88:720-755.
- (3) Norman AW. From vitamin D to hormone D: fundamentals of the vitamin D endocrine system essential for good health. *Am J Clin Nutr* 2008;88:491S-499S.
- (4) Institute of Medicine. Dietary Reference Intakes for Calcium and Vitamin D. 2011. Washington, DC, The National Academies Press.
- (5) Vernay M, Sponga M, Salavane B et al. Statut en vitamine D de la population adulte en France: l'Étude nationale nutrition santé (ENNS 2006-2007). [Vitamin D status in the French adult population: the French Nutrition and Health Survey (ENNS, 2006-2007)]. *Bulletin épidémiologique hebdomadaire (BEH)* 2012;16-17:189-194.
- (6) Spiro A, Buttriss JL. Vitamin D: An overview of vitamin D status and intake in Europe. *Nutr Bull* 2014;39:322-350.

- (7) Theodoratou E, Tzoulaki I, Zgaga L, Ioannidis JP. Vitamin D and multiple health outcomes: umbrella review of systematic reviews and meta-analyses of observational studies and randomised trials. *BMJ* 2014;348:g2035.
- (8) European Commission. EU Register on nutrition and health claims. *European Commission* [serial online] 2016.
- (9) Caulfield T, Clark MI, McCormack JP, Rachul C, Field CJ. Representations of the health value of vitamin D supplementation in newspapers: media content analysis. *BMJ Open* 2014;4:e006395.
- (10) Al Bathi BA, Al Zayed KE, Al Qenai M, Makboul G, El-Shazly MK. Knowledge, attitude and practice of patients attending primary care centers toward vitamin D in Kuwait. *Alexandria Journal of Medicine* 2012;48:277-282.
- (11) Bennett K, Frisby BN, Young LE, Murray D. Vitamin D: an examination of physician and patient management of health and uncertainty. *Qual Health Res* 2014;24:375-386.
- (12) Boland S, Irwin JD, Johnson AM. A survey of university students' vitamin D-related knowledge. *J Nutr Educ Behav* 2015;47:99-103.
- (13) Bonevski B, Girgis A, Magin P, Horton G, Brozek I, Armstrong B. Prescribing sunshine: a cross-sectional survey of 500 Australian general practitioners' practices and attitudes about vitamin D. *Int J Cancer* 2012;130:2138-2145.
- (14) Bonevski B, Bryant J, Lambert S, Brozek I, Rock V. The ABC of vitamin D: a qualitative study of the knowledge and attitudes regarding vitamin D deficiency amongst selected population groups. *Nutrients* 2013;5:915-927.
- (15) Christie FT, Mason L. Knowledge, attitude and practice regarding vitamin D deficiency among female students in Saudi Arabia: a qualitative exploration. *Int J Rheum Dis* 2011;14:e22-e29.
- (16) Engels Y, van AP, Dorant E, Lechner L. Factors associated with the intention to use vitamin D supplements: quantitative study among a sample of elderly people in a medium-sized town in the Netherlands. *J Nutr Educ* 2001;33:134-142.
- (17) Janda M, Youl P, Bolz K, Niland C, Kimlin M. Knowledge about health benefits of vitamin D in Queensland Australia. *Prev Med* 2010;50:215-216.
- (18) Kim BH, Glanz K, Nehl EJ. Vitamin D beliefs and associations with sunburns, sun exposure, and sun protection. *Int J Environ Res Public Health* 2012;9:2386-2395.
- (19) Kotta S, Gadhvi D, Jakeways N et al. "Test me and treat me"--attitudes to vitamin D deficiency and supplementation: a qualitative study. *BMJ Open* 2015;5:e007401.
- (20) Kung AW, Lee KK. Knowledge of vitamin D and perceptions and attitudes toward sunlight among Chinese middle-aged and elderly women: a population survey in Hong Kong. *BMC Public Health* 2006;6:226.
- (21) Reeder AI, Jopson JA, Gray AR. "Prescribing sunshine": a national, cross-sectional survey of 1,089 New Zealand general practitioners regarding their sun exposure and vitamin D perceptions, and advice provided to patients. *BMC Fam Pract* 2012;13:85.
- (22) Tarn DM, Paterniti DA, Wenger NS. Provider Recommendations in the Face of Scientific Uncertainty: An Analysis of Audio-Recorded Discussions about Vitamin D. *J Gen Intern Med* 2016.
- (23) Toher C, Lindsay K, McKenna M et al. Relationship between vitamin D knowledge and 25-hydroxyvitamin D levels amongst pregnant women. *J Hum Nutr Diet* 2014;27:261-269.
- (24) Uddin R, Huda NH, Jhanker YM, Jesmeen T, Imam MZ, Akter S. Awareness regarding the importance of calcium and vitamin D among the undergraduate pharmacy students in Bangladesh. *BMC Res Notes* 2013;6:134.
- (25) Walker N, Love TD, Baker DF et al. Knowledge and attitudes to vitamin D and sun exposure in elite New Zealand athletes: a cross-sectional study. *J Int Soc Sports Nutr* 2014;11:47.
- (26) Youl PH, Janda M, Kimlin M. Vitamin D and sun protection: the impact of mixed public health messages in Australia. *Int J Cancer* 2009;124:1963-1970.

- (27) Vu LH, van der Pols JC, Whiteman DC, Kimlin MG, Neale RE. Knowledge and attitudes about Vitamin D and impact on sun protection practices among urban office workers in Brisbane, Australia. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2010;19:1784-1789.
- (28) Hercberg S, Castetbon K, Czernichow S et al. The Nutrinet-Sante Study: a web-based prospective study on the relationship between nutrition and health and determinants of dietary patterns and nutritional status. *BMC Public Health* 2010;10:242.
- (29) Deschasaux M, Souberbielle JC, Andreeva VA et al. Quick and Easy Screening for Vitamin D Insufficiency in Adults: A Scoring System to Be Implemented in Daily Clinical Practice. *Medicine (Baltimore)* 2016;95:e2783.
- (30) INSEE. French National Census Data. *Institut National de la Statistique et des Etudes Economiques* [serial online] 2016.
- (31) Holick MF. Sunlight and vitamin D for bone health and prevention of autoimmune diseases, cancers, and cardiovascular disease. *Am J Clin Nutr* 2004;80:1678S-1688S.
- (32) Levine JA, Sorace M, Spencer J, Siegel DM. The indoor UV tanning industry: a review of skin cancer risk, health benefit claims, and regulation. *J Am Acad Dermatol* 2005;53:1038-1044.
- (33) WHO/IARC. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Agents classified by the IARC Monographs 1-115. *International Agency for Research on Cancer* [serial online] 2016.
- (34) Schadendorf D, Fisher D.E., Garbe C et al. Melanoma. *Nature Reviews Disease Primers* 2015;1:1-20.
- (35) Touvier M, Deschasaux M, Montourcy M et al. Determinants of Vitamin D Status in Caucasian Adults: Influence of Sun Exposure, Dietary Intake, Socio-Demographic, Lifestyle, Anthropometric and Genetic Factors. *J Invest Dermatol* 2015;135:378-388.
- (36) Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA et al. Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab* 2011;96:1911-1930.
- (37) Holick MF. Letter to the Editor. The IOM D-lemma. *Public Health Nutr* 2011;14:939-941.
- (38) Hashemipour S, Lalooha F, Zahir MS, Ziaee A, Dabaghi GT. Effect of vitamin D administration in vitamin D-deficient pregnant women on maternal and neonatal serum calcium and vitamin D concentrations: a randomised clinical trial. *Br J Nutr* 2013;110:1611-1616.
- (39) CNGOF. Collège National des Gynécologues et Obstétriciens Français. Supplémentation au cours de la grossesse [Supplementation during pregnancy] (in French). 1997.
- (40) National Institute for Health and Care Excellence (NICE). Vitamin D: increasing supplement use among at-risk group. 2014. United Kingdom.
- (41) Fassier P, Chhim AS, Andreeva VA et al. Seeking health and nutrition-related information on the Internet in a large population of French adults: results of the NutriNet-Santé e-cohort study. *Br J Nutr* 2016.

Table 1 Characteristics of the study population before and after statistical weighting, NutriNet-Santé cohort, 2009-2015

	Unweighted		Weighted	
	N	%	N	%
Sex				
Men	13237	22.3	26834	46.7
Women	46036	77.7	30675	53.3
Age, y				
Mean, SD	48.5	14.5	48.3	15.9
<35	13625	23.0	14747	25.6
35-55	22920	38.7	21226	36.9
>=55	22728	38.3	21536	37.5
Educational level				
< high-school degree	11308	19.1	33589	58.4
< 2 years after high-school degree	8937	15.1	9164	15.9
≥ 2 years after high-school degree	39028	65.8	14755	25.7
Monthly income per household unit				
< 1200€	8445	14.3	15434	26.8
1200 to 1800€	14940	25.2	16856	29.3
1800 to 2700€	15662	26.4	12625	22.0
≥ 2700€	16457	27.8	8086	14.1
Did not wish to answer	3769	6.4	4507	7.8
Phototype (Fitzpatrick classification)				
I, always burns easily, never tans	3776	6.4	3557	6.2
II, burns easily, tans minimally	18195	30.7	15621	27.2
III, burns moderately, tans gradually	21136	35.7	19364	33.7
IV, burns minimally, tans well	10800	18.2	11742	20.4
V, burns rarely, tans profusely	3695	6.2	4342	7.6
VI, never burns, deep pigmentation	1670	2.8	2883	5.0
Living area				
Northern France (North, Paris Basin, East, Centre-East, West)	45296	76.4	44022	76.6
Southern France (South-West, Mediterranean Basin)	13977	23.6	13486	23.4
Size of the urban unit				
Rural community	12995	21.9	14607	25.4
Urban community < 200 000 inhabitants	19277	32.6	20170	35.1
Urban community ≥ 200 000 inhabitants	26952	45.5	22686	39.5
Vitamin D supplement or drug use*				
Yes	7622	12.9	6087	10.6

* Participants were considered to already have taken a vitamin D supplement/drug if they declared taking a vitamin D supplement or a drug containing vitamin D in the dietary supplement questionnaire or in any health questionnaire prior to the questionnaire investigating vitamin D knowledge.

Table 2 Sources of information regarding vitamin D and concerns regarding vitamin D status overall and according to age, sex and educational level, NutriNet-Santé cohort, France 2009-2015

	Overall		Sex				P*	Age						P*	Educational level						P†																					
			Women		Men			< 35y		35-55y		≥55y			< high-school degree		< 2 years after high-school degree		≥ 2 years after high-school degree																							
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%																						
Have you ever heard of vitamin D?																					<.0001																					<.0001
Yes‡	52873	91.9	29111	94.9	23762	88.6		13334	90.4	19191	90.4	20347	94.5		30451	90.7	8490	92.6	13932	94.4																						
No	2942	5.1	987	3.2	1955	7.3		852	5.8	1422	6.7	668	3.1		1927	5.7	460	5.0	555	3.8																						
I don't know	1693	3.0	576	1.9	1117	4.2		560	3.8	612	2.9	521	2.4		1212	3.6	213	2.3	268	1.8																						
Where/with whom did you heard of vitamin D? (multiple choices)																					<.0001																					<.0001
At your physician's	21467	40.6	14787	50.8	6680	28.1	<.0001	4052	30.4	7758	40.4	9658	47.5	<.0001	13519	44.4	2985	35.2	4963	35.6	<.0001																					
At another health care professional's	7357	13.9	4623	15.9	2734	11.5	<.0001	2174	16.3	2594	13.5	2590	12.7	<.0001	3982	13.1	1231	14.5	2145	15.4	<.0001																					
In newspapers	13842	26.2	6675	22.9	7168	30.2	<.0001	3076	23.1	4928	25.7	5839	28.7	<.0001	8201	26.9	2206	26.0	3435	24.6	<.0001																					
In magazines	20438	38.7	11245	38.6	9192	38.7	0.9	4196	31.5	7197	37.5	9044	44.4	<.0001	12208	40.1	3246	38.2	4984	35.8	<.0001																					
At the radio	9765	18.5	4136	14.2	5629	23.7	<.0001	2028	15.2	3611	18.8	4126	20.3	<.0001	5863	19.2	1500	17.7	2402	17.2	<.0001																					
At the television	20746	39.2	10396	35.7	10350	43.6	<.0001	5936	44.5	7346	38.3	7464	36.7	<.0001	12380	40.7	3655	43.0	4712	33.8	<.0001																					
At relatives' or friends'	7412	14.0	3428	11.8	3984	16.8	<.0001	2168	16.3	2841	14.8	2403	11.8	<.0001	4021	13.2	1188	14.0	2202	15.8	<.0001																					
At School/University	9853	18.6	5677	19.5	4176	17.6	<.0001	4530	34.0	3048	15.9	2275	11.2	<.0001	2868	9.4	2386	28.1	4598	33.0	<.0001																					
Elsewhere	5471	10.4	2215	7.6	3256	13.7	<.0001	1731	13.0	2296	12.0	1443	7.1	<.0001	2762	9.1	1113	13.1	1595	11.4	<.0001																					
I don't remember	4589	8.7	1960	6.7	2628	11.1	<.0001	1255	9.4	1942	10.1	1392	6.8	<.0001	2557	8.4	598	7.1	1434	10.3	<.0001																					
I think that my vitamin D status is too low																					<.0001																					<.0001
Agree	12576	23.8	9069	31.2	3507	14.8		3010	22.6	4298	22.4	5268	25.9		7620	25.0	1722	20.3	3233	23.2																						
Disagree	15449	29.2	8045	27.6	7404	31.2		4432	33.2	5311	27.7	5706	28.0		7875	25.9	3129	36.9	4444	31.9																						
I don't know	24849	47.0	11998	41.2	12851	54.1		5893	44.2	9583	49.9	9373	46.1		14956	49.1	3638	42.8	6254	44.9																						

* P for the comparison of answers between categories using χ^2 tests

† P for the comparison of answers between categories using χ^2 tests from unconditional logistic regression models adjusted for age (< 35y, 35-55y, ≥55y) and sex. When 3 answers were possible (ex: "Agree / Disagree / I don't know"), polytomous unconditional logistic regression models adjusted for age and sex were used.

‡ Only participants who answered "Yes" to this question had access to the other questions

Bold values are the ones for which >5% difference was observed between categories

Table 3 Opinion regarding vitamin D status and measured vitamin D status, NutriNet-Santé cohort, France 2009-2015

	I think that my vitamin D status is too low				P*
	Overall	Agree	Disagree	I don't know	
Vitamin D status					0.005
< 20ng/ml (insufficiency)					
N	276	45	75	156	
% (line)	100	16.3	27.2	56.5	
% (column)	39.4	30.4	35.1	46.2	
≥ 20ng/ml					
N	424	103	139	182	
% (line)		24.3	32.8	42.9	
% (column)	60.6	69.6	64.9	53.8	
Overall					
N	700	148	214	338	
% (line)	100	21.1	30.6	48.3	

* P for the comparison of answers between measured vitamin D status and opinion regarding vitamin D status using χ^2 tests from unconditional logistic regression models adjusted for age (< 35y, 35-55y, ≥55y) and sex. When 3 answers were possible (ex: "Agree / Disagree / I don't know"), polytomous unconditional logistic regression models adjusted for age and sex were used.

Table 4 Knowledge regarding sources of vitamin D overall and according to sex, age and educational level, NutriNet-Santé cohort, France 2009-2015

	Overall		Sex					Age						Educational level								
			Women		Men		P*	< 35y		35-55y		≥55y		P*	< high-school degree		< 2 years after high-school degree		≥ 2 years after high-school degree		P†	
	N	%	N	%	N	%		N	%	N	%	N	%		N	%	N	%	N	%		
Where do you think the body can obtain vitamin D? (multiple choices)																						
Fatty fish	32476	61.4	19125	65.7	13351.2	56.2	<.0001	6938	52.0	11403	59.4	14136	69.5	<.0001	19223	63.1	4965	58.5	8288	59.5	<.0001	
Lean fish	5587	10.6	2808	9.7	2778.71	11.7	<.0001	1504	11.3	2131	11.1	1952	9.6	<.0001	3324	10.9	878	10.4	1385	9.9	0.006	
Cod liver oil	28930	54.7	17241	59.2	11689.7	49.2	<.0001	5557	41.7	9898	51.6	13476	66.2	<.0001	17162	56.4	4406	51.9	7362	52.8	<.0001	
Dairy products‡	16654	31.5	9525	32.7	7129.54	30.0	<.0001	4350	32.6	5495	28.6	6809	33.5	<.0001	9566	31.4	2826	33.3	4262	30.6	0.0001	
Dairy products fortified with vitamin D‡	27063	51.2	15995	54.9	11067.6	46.6	<.0001	7834	58.8	9138	47.6	10091	49.6	<.0001	14587	47.9	4678	55.1	7798	56.0	<.0001	
Chicken	2291	4.3	959	3.3	1331.67	5.6	<.0001	891	6.7	648	3.4	752	3.7	<.0001	1367	4.5	504	5.9	419	3.0	<.0001	
Red meat	3425	6.5	2026	7.0	1399.17	5.9	<.0001	774	5.8	1368	7.1	1283	6.3	<.0001	2200	7.2	529	6.2	695	5.0	<.0001	
Offal	12347	23.4	7760	26.7	4586.95	19.3	<.0001	2027	15.2	4566	23.8	5753	28.3	<.0001	7459	24.5	1872	22.0	3016	21.7	<.0001	
Eggs	12109	22.9	7116	24.5	4992.83	21.0	<.0001	2487	18.7	4255	22.2	5368	26.4	<.0001	7158	23.5	1908	22.5	3044	21.9	0.0003	
Olive oil	9730	18.4	5283	18.2	4447.12	18.7	0.09	2121	15.9	3214	16.7	4395	21.6	<.0001	6035	19.8	1651	19.4	2044	14.7	<.0001	
Antioxidant supplements	3850	7.3	2299	7.9	1551.48	6.5	<.0001	935	7.0	1421	7.4	1494	7.3	0.4	2500	8.2	574	6.8	776	5.6	<.0001	
Vitamin supplements	14089	26.7	8358	28.7	5731.02	24.1	<.0001	5155	38.7	5042	26.3	3891	19.1	<.0001	6660	21.9	2653	31.3	4775	34.3	<.0001	
Drugs containing vitamin D	32623	61.7	19730	67.8	12893.7	54.3	<.0001	8248	61.9	11311	58.9	13065	64.2	<.0001	17879	58.7	5421	63.9	9323	66.9	<.0001	
Sun exposure	37910	71.7	22662	77.9	15248.1	64.2	<.0001	9742	73.1	13422	69.9	14747	72.5	<.0001	20674	67.9	6349	74.8	10886	78.1	<.0001	
I don't know	4443	8.4	1432	4.9	3011.12	12.7	<.0001	1413	10.6	1711	8.9	1319	6.5	<.0001	2956	9.7	599	7.1	889	6.4	<.0001	
Tanning booths and sunbeds from tanning salons can get me vitamin D during winter months																						
Agree	3107	5.9	1508	5.2	1600	6.7		1060	8.0	1097	5.7	950	4.7		1505	4.9	626	7.4	976	7.0		
Disagree	29565	55.9	17551	60.3	12015	50.6	<.0001	7705	57.8	10341	53.9	11520	56.6	<.0001	16565	54.4	5145	60.6	7855	56.4	<.0001	
I don't know	20200	38.2	10053	34.5	10147	42.7		4569	34.3	7754	40.4	7878	38.7		12381	40.7	2719	32.0	5101	36.6		

* P for the comparison of answers between categories using χ^2 tests

† P for the comparison of answers between categories using χ^2 tests from unconditional logistic regression models adjusted for age (< 35y, 35-55y, ≥55y) and sex. When 3 answers were possible (ex: "Agree / Disagree / I don't know"), polytomous unconditional logistic regression models adjusted for age and sex were used.

‡ In France, fortification of foodstuffs with vitamin D is allowed but not mandatory

Bold values are the ones for which >5% difference was observed between categories

Table 5 Beliefs regarding the role of vitamin D in health conditions, overall and according to sex, age and educational level, NutriNet-Santé cohort, France 2009-2015

	Overall		Sex				Age						Educational level						P [†]		
			Women		Men		< 35y		35-55y		≥55y		< high-school degree		< 2 years after high-school degree		≥ 2 years after high-school degree				
	N	%	N	%	N	%	P*	N	%	N	%	N	%	P*	N	%	N	%		N	%
According to you, is vitamin D relevant for the following health conditions?																					
Bone health							<.0001							<.0001							<.0001
Yes	41311	78.1	24761	85.1	16551	69.7		9945	74.6	14146	73.7	17220	84.6		23937	78.6	6633	78.1	10741	77.1	
No	1942	3.7	777	2.7	1165	4.9		621	4.7	854	4.5	468	2.3		1001	3.3	421	5.0	521	3.7	
I don't know	9619	18.2	3574	12.3	6046	25.4		2768	20.8	4192	21.8	2659	13.1		5513	18.1	1436	16.9	2670	19.2	
Osteoporosis							<.0001							<.0001							<.0001
Yes	39166	74.1	24386	83.8	14780	62.2		9030	67.7	13374	69.7	16762	82.4		22825	75.0	6153	72.5	10188	73.1	
No	1695	3.2	694	2.4	1001	4.2		392	2.9	836	4.4	467	2.3		890	2.9	337	4.0	468	3.4	
I don't know	12012	22.7	4032	13.9	7981	33.6		3913	29.3	4981	26.0	3118	15.3		6736	22.1	2000	23.6	3276	23.5	
Rickets							<.0001							<.0001							0.4
Yes	32906	62.2	20502	70.4	12404	52.2		6418	48.1	11612	60.5	14876	73.1		18972	62.3	5285	62.3	8649	62.1	
No	2785	5.3	1298	4.5	1488	6.3		693	5.2	1289	6.7	803	4.0		1645	5.4	419	4.9	721	5.2	
I don't know	17182	32.5	7312	25.1	9870	41.5		6223	46.7	6291	32.8	4668	22.9		9834	32.3	2786	32.8	4562	32.7	
Cancer							<.0001							<.0001							0.0006
Yes	13081	24.7	6942	23.8	6140	25.8		3335	25.0	4990	26.0	4756	23.4		7445	24.5	2238	26.4	3397	24.4	
No	7840	14.8	4363	15.0	3477	14.6		2095	15.7	2531	13.2	3214	15.8		4474	14.7	1297	15.3	2069	14.9	
I don't know	31952	60.4	17807	61.2	14145	59.5		7904	59.3	11671	60.8	12377	60.8		18531	60.9	4955	58.4	8466	60.8	
Skin cancers							<.0001							<.0001							<.0001
Yes	17375	32.9	8849	30.4	8527	35.9		4645	34.8	6208	32.4	6522	32.1		9986	32.8	2874	33.9	4516	32.4	
No	6640	12.6	3652	12.5	2988	12.6		1583	11.9	2440	12.7	2617	12.9		3976	13.1	931	11.0	1733	12.4	
I don't know	28858	54.6	16611	57.1	12247	51.5		7106	53.3	10544	54.9	11208	55.1		16489	54.2	4685	55.2	7684	55.2	
Skin diseases							<.0001							<.0001							0.4
Yes	13727	26.0	7136	24.5	6592	27.7		3811	28.6	5156	26.9	4760	23.4		7847	25.8	2214	26.1	3666	26.3	
No	6536	12.4	3740	12.9	2796	11.8		1573	11.8	2341	12.2	2622	12.9		3830	12.6	1011	11.9	1695	12.2	
I don't know	32610	61.7	18235	62.6	14375	60.5		7949	59.6	11695	60.9	12965	63.7		18774	61.7	5265	62.0	8571	61.5	
Kidney diseases							<.0001							<.0001							<.0001
Yes	3423	6.5	1808	6.2	1615	6.8		1353	10.2	1124	5.9	945	4.6		1566	5.1	746	8.8	1110	8.0	
No	11062	20.9	6356	21.8	4706	19.8		2475	18.6	4019	20.9	4568	22.5		6570	21.6	1697	20.0	2796	20.1	
I don't know	38388	72.6	20947	72.0	17441	73.4		9506	71.3	14048	73.2	14834	72.9		22315	73.3	6047	71.2	10026	72.0	
Alzheimer's							<.0001							<.0001							0.0001
Yes	3566	6.7	2126	7.3	1440	6.1		984	7.4	1211	6.3	1370	6.7		2137	7.0	580	6.8	849	6.1	

No	12306	23.3	7118	24.5	5188	21.8		3048	22.9	4336	22.6	4922	24.2		6957	22.9	2079	24.5	3270	23.5
I don't know	37002	70.0	19868	68.3	17134	72.1		9302	69.8	13645	71.1	14055	69.1		21357	70.1	5832	68.7	9813	70.4
Diabetes							<.0001							<.0001						<.0001
Yes	4617	8.7	2331	8.0	2287	9.6		1264	9.5	1467	7.6	1886	9.3		2821	9.3	743	8.8	1054	7.6
No	13966	26.4	7883	27.1	6083	25.6		3840	28.8	4912	25.6	5214	25.6		7640	25.1	2493	29.4	3833	27.5
I don't know	34290	64.9	18898	64.9	15392	64.8		8230	61.7	12813	66.8	13247	65.1		19989	65.7	5255	61.9	9045	64.9
Heart diseases							0.0009							<.0001						<.0001
Yes	4104	7.8	2167	7.4	1937	8.2		1048	7.9	1371	7.1	1685	8.3		2461	8.1	672	7.9	971	7.0
No	13795	26.1	7732	26.6	6063	25.5		3687	27.7	4748	24.7	5360	26.3		7619	25.0	2420	28.5	3756	27.0
I don't know	34974	66.2	19212	66.0	15762	66.3		8599	64.5	13073	68.1	13302	65.4		20370	66.9	5398	63.6	9205	66.1
Psychiatric diseases							0.0023							<.0001						<.0001
Yes	5755	10.9	3280	11.3	2475	10.4		1880	14.1	2194	11.4	1680	8.3		3020	9.9	1041	12.3	1694	12.2
No	14053	26.6	7779	26.7	6274	26.4		3698	27.7	4909	25.6	5447	26.8		8064	26.5	2322	27.4	3667	26.3
I don't know	33065	62.5	18052	62.0	15013	63.2		7757	58.2	12089	63.0	13220	65.0		19367	63.6	5127	60.4	8571	61.5
Infections							<.0001							<.0001						<.0001
Yes	13439	25.4	7540	25.9	5899	24.8		3260	24.5	5093	26.5	5085	25.0		7859	25.8	2294	27.0	3285	23.6
No	9904	18.7	5577	19.2	4326	18.2		2448	18.4	3453	18.0	4003	19.7		5646	18.5	1576	18.6	2681	19.2
I don't know	29531	55.9	15994	54.9	13537	57.0		7626	57.2	10645	55.5	11260	55.3		16945	55.7	4620	54.4	7966	57.2
Pregnancy							<.0001							<.0001						<.0001
Yes	21109	39.9	14294	49.1	6815	28.7		6467	48.5	7982	41.6	6661	32.7		11326	37.2	3736	44.0	6048	43.4
No	6328	12.0	3058	10.5	3270	13.8		1482	11.1	2040	10.6	2805	13.8		3865	12.7	1016	12.0	1447	10.4
I don't know	25436	48.1	11760	40.4	13677	57.6		5385	40.4	9170	47.8	10881	53.5		15261	50.1	3738	44.0	6438	46.2
No health effect							<.0001							<.0001						<.0001
Yes	3314	6.3	2087	7.2	1228	5.2		322	2.4	900	4.7	2093	10.3		2645	8.7	324	3.8	346	2.5
No	34989	66.2	19741	67.8	15248	64.2		10317	77.4	12576	65.5	12096	59.5		17695	58.1	6336	74.6	10958	78.7
I don't know	14570	27.6	7284	25.0	7286	30.7		2696	20.2	5716	29.8	6159	30.3		10111	33.2	1831	21.6	2629	18.9

* P for the comparison of answers between categories using χ^2 tests

† P for the comparison of answers between categories using χ^2 tests from unconditional logistic regression models adjusted for age (< 35y, 35-55y, ≥55y) and sex. When 3 answers were possible (ex: "Agree / Disagree / I don't know"), polytomous unconditional logistic regression models adjusted for age and sex were used.

Bold values are the ones for which >5% difference was observed between categories.

Determinants of Vitamin D Status in Caucasian Adults: Influence of Sun Exposure, Dietary Intake, Sociodemographic, Lifestyle, Anthropometric, and Genetic Factors

Mathilde Touvier¹, Mélanie Deschasaux¹, Marion Montourcy¹, Angela Sutton², Nathalie Charnaux², Emmanuelle Kesse-Guyot¹, Karen E. Assmann¹, Léopold Fezeu¹, Paule Latino-Martel¹, Nathalie Druesne-Pecollo¹, Christiane Guinot^{3,4}, Julie Latreille^{1,3}, Denis Malvy⁵, Pilar Galan¹, Serge Hercberg^{1,6}, Sigrid Le Clerc⁷, Jean-Claude Souberbielle⁸ and Khaled Ezzedine^{1,5}

Very few studies have investigated the determinants of serum vitamin D levels using a set of variables that include simultaneously sun exposure, phototype, dietary intake, sociodemographics, anthropometric, lifestyle data, and genetic polymorphisms. Our objective was to investigate the associations between all these parameters and vitamin D status in a large sample of French adults. This cross-sectional survey was based on 1,828 middle-aged Caucasian adults from the SU.VI.MAX (SUpplémentation en Vitamines et Minéraux AntioXydants) study. Plasma 25-hydroxyvitamin D (25OHD) concentration was lower among women ($P < 0.0001$), older subjects ($P = 0.04$), obese/underweight ($P < 0.0001$), those living at higher latitudes ($P < 0.0001$), those whose blood draw occurred in early spring ($P < 0.0001$), less physically active ($P < 0.0001$), with low sun exposure ($P < 0.0001$), and with no-to-low alcohol intake ($P = 0.0001$). Mutant GC rs4588 and rs7041 single nucleotide polymorphisms were associated with lower and higher 25OHD concentrations, respectively ($P < 0.0001$). Dietary intake was not a major determinant of vitamin D status ($P = 0.7$). This study provides an overall picture of determinants of vitamin D status. Several modifiable factors were identified, such as daily-life moderate sun exposure, physical activity, and normal-weight maintenance, which should be targeted by public health policies in order to improve vitamin D status in the general population, while avoiding active/intensive sun exposure, in line with recommendations for skin cancer prevention.

Journal of Investigative Dermatology (2015) 135, 378–388; doi:10.1038/jid.2014.400; published online 16 October 2014

INTRODUCTION

Vitamin D is a pro-hormone that has a critical role in the phosphocalcic metabolism, and sufficient vitamin D levels are

essential for optimal bone mineral density. Vitamin D can be supplied from dietary sources but is mainly generated endogenously from skin exposure to sunlight via the epidermis, which is the main site of vitamin D3 photosynthesis (Lehmann *et al.*, 2004; Reichrath, 2007). In addition, the vitamin D receptor (VDR) located within the keratinocytes makes these cells a unique photoendocrine vitamin D system that is stimulated by UVB irradiation (Holick, 2007). Binding of vitamin D on keratinocyte VDR enhances the production of cathelicidins, which have potent microbicidal activities and are a major component of the innate immune system (Zasloff, 2005). This argues for an important role of vitamin D in immune defense. Indeed, most tissues and cells in the body express VDRs, and several tissues possess the enzymatic machinery to convert the primary circulating form of vitamin D, 25-hydroxyvitamin D (25OHD), to the active form, 1,25-dihydroxyvitamin D. Besides its immune-modulatory and anti-inflammatory properties, there is now increasing epidemiological and experimental evidence for a protective effect of vitamin D not only on the risk of fall and fracture but also on dental health, colorectal cancer, hypertension, and cardio-

¹Sorbonne Paris Cité Epidemiology and Biostatistics Research Center (CRESS), Nutritional Epidemiology Research Team (EREN), Inserm U1153, Inra U1125, Cnam, Paris 13 University, Paris 5 University, Paris 7 University, Bobigny, France; ²Biochemistry Department, Jean Verdier Hospital, Inserm U698, Paris 13 University, Bondy, France; ³Research Centre on Human Skin of CHANEL (CERIES), Neuilly sur Seine, France; ⁴Computer Science Laboratory, François Rabelais University, Tours, France; ⁵Dermatology Department, Saint André Hospital, Bordeaux, France; ⁶Public Health Department, Avicenne Hospital, Bobigny, France; ⁷Conservatoire National des Arts et Métiers (CNAM), Genomics, Bioinformatics and Applications Team (EA4627), Paris, France and ⁸Department of Physiology, Necker Hospital, INSERM U845, Paris, France

Correspondence: Mathilde Touvier, Nutritional Epidemiology Research Team (EREN), SMBH Paris 13, 74 Rue Marcel Cachin, F-93017 Bobigny, France. E-mail: m.touvier@eren.smbh.univ-paris13.fr

Abbreviations: 25OHD, 25-hydroxyvitamin D; BMI, body mass index; CI, confidence interval; OR, odds ratio; SNP, single nucleotide polymorphism; SU.VI.MAX, SUpplémentation en Vitamines et Minéraux AntioXydants

Received 30 June 2014; revised 26 August 2014; accepted 29 August 2014; accepted article preview online 11 September 2014; published online 16 October 2014

vascular mortality (Rosen, 2011; Touvier et al., 2011; Vimalaswaran et al., 2014). Thus, reaching and maintaining an optimal vitamin D status at all life stages is of major individual and public health importance.

Some determinants of vitamin D status are now well established. This is the case, for instance, for sun exposure (Holick, 2007) and physical activity (Freedman et al., 2013), both known to be associated with increased vitamin D status. However, even for these later factors, some issues remain. Indeed, the optimal level of usual sun exposure needed to positively impact vitamin D status is still undetermined. This question is crucial considering that excessive sun exposure is the most established risk factor for skin cancer and premature skin aging (Glossmann, 2013; Petersen et al., 2014). Regarding physical activity, it is still unclear whether this factor has a causal influence on vitamin D status as such, or whether the influence is only from sun exposure during outdoor physical activity practices. Besides, other potential lifestyle correlates of vitamin D status, such as alcohol intake, have been poorly investigated (Bertrand et al., 2012; Engelman et al., 2013; Saquib et al., 2006; Shirazi et al., 2013; Thuesen et al., 2012).

Single nucleotide polymorphisms (SNPs) of genes involved in vitamin D and/or calcium metabolism could also influence circulating 25OHD concentrations (Hiraki et al., 2013; Wang et al., 2010). Of particular interest are genes coding for the VDR, the vitamin D-deactivating enzyme 24- α hydroxylase (CYP24A1), the calcium-sensing receptor (CASR), the retinoid X receptor (RXR, which forms a heterodimer with the VDR upon vitamin D activation), and the GC gene (encoding for the vitamin D-binding protein). However, little is known regarding the associations of these genes with vitamin D status (Trummer et al., 2012; Bouillon, 2010; Engelman et al., 2008, 2013; Ahn et al., 2010).

Finally, to our knowledge, only one study has assessed the co-influence of sun exposure, phototype, dietary vitamin D intake, physical activity, anthropometry, sociodemographic and lifestyle factors, and genetic polymorphisms on vitamin D status, simultaneously in the same population, and it was restricted to at-risk subjects—i.e., post-menopausal women (Engelman et al., 2013). Thus, our objective was to investigate the relative association of all these parameters with vitamin D status in a large sample of French middle-aged Caucasian adults.

RESULTS

Characteristics of the study population are described in Table 1. Participants were Caucasian middle-aged men and women. Mean 25OHD plasma concentration was 20.0 ng ml^{-1} (SD = 10.3); 14.8% of subjects had a vitamin D status $\leq 10 \text{ ng ml}^{-1}$ and 57.8% had a vitamin D status $\leq 20 \text{ ng ml}^{-1}$. Mean plasma parathyroid hormone (PTH) concentration was 26.3 ng l^{-1} (SD = 9.4).

All studied SNPs respected the Hardy-Weinberg equilibrium ($P > 0.05$), except VDR BsmI rs1544410 and VDR FokI rs2228570/10735810 (both $P = 0.01$). The repartition of subjects across the different genotypes was in accordance with

that observed in European reference populations (CSHL-HapMap-CEU and 1000GENOMES-phase_1_EUR) for all SNPs ($P > 0.05$).

Vitamin D status was lower among women ($P < 0.0001$), older subjects ($P = 0.04$), obese or underweight subjects ($P < 0.0001$), subjects who lived at higher latitudes ($P < 0.0001$), and those whose blood draw occurred in early spring ($P < 0.0001$; Supplementary Table 1 online). Conversely, vitamin D status was higher among subjects who were more physically active ($P < 0.0001$), who had higher scores of usual sun exposure ($P < 0.0001$), those with higher Fitzpatrick phototype (among Caucasians, $P = 0.03$), and those who drank more alcohol ($P = 0.0001$; Supplementary Table 1 online).

Among the 10 studied SNPs, mutant GC rs4588 was associated with lower vitamin D status, whereas mutant GC rs7041 was associated with higher vitamin D status (both $P < 0.0001$; Supplementary Table 2 online).

Consistently, risk of 25OHD deficiency was higher among women (OR_{women vs. men} = 2.6, 95% confidence interval (CI) = (1.6–4.3), $P < 0.0001$), obese and underweight subjects (OR_{obese vs. normal} = 3.9 (2.2–7.0), OR_{underweight vs. normal} = 3.1 (1.1–9.2), $P < 0.0001$), subjects who lived at higher latitudes (OR_{Q4 vs. Q1} = 3.2 (2.0–5.0), $P < 0.0001$), and those whose blood draw occurred in early spring (OR_{April–May vs. October–November} = 3.7 (1.9–7.0), $P < 0.0001$; Table 2). Risk of 25OHD deficiency was lower among subjects who were more physically active (OR _{$\geq 1 \text{ h per day vs. irregular}$} = 0.4 (0.3–0.7), $P < 0.0001$), who had higher scores of usual sun exposure (OR_{Q4 vs. Q1} = 0.2 (0.1–0.3), $P < 0.0001$), those with higher Fitzpatrick phototype (among Caucasians, OR_{IV vs. I} = 0.4 (0.2–0.99), $P = 0.04$), and those who drank more alcohol (OR_{Q4 vs. Q1} = 0.5 (0.3–0.8), $P = 0.006$; Table 2).

Mutant GC rs4588 was associated with higher risk of 25OHD deficiency (OR_{MT vs. WT} = 4.9 (3.0–8.1), $P < 0.0001$), whereas mutant GC rs7041 was associated with lower risk (OR_{MT vs. WT} = 0.3 (0.2–0.5), $P < 0.0001$; Table 3).

Associations were very similar regarding the risk of 25OHD insufficiency (Tables 2 and 3).

Dietary intake of vitamin D, smoking status, and educational level were not related to vitamin D status in any model (Supplementary Tables 1 and 2 online), nor were menopausal status and hormonal treatment for menopause (data not shown).

In multivariate models, higher practice of mountain sports (OR_{Q4 vs. Q1} = 0.4 (0.2–0.8), $P = 0.003$) and outdoor hobbies (OR_{Q4 vs. Q1} = 0.6 (0.4–0.9), $P = 0.01$) was independently associated with lower risk of 25OHD deficiency. No association was observed for nautical sports ($P = 0.9$). The adjunction of these outdoor sports or hobbies into the multivariate model did not modify the findings for all other covariates (including physical activity).

All associations between 25OHD concentrations, risk of vitamin D deficiency, risk of vitamin D insufficiency, and nongenetic parameters were maintained when genetic factors were entered in the models (data not shown). Further adjustment for energy intake did not modify the findings. When a stepwise selection of covariates was performed, all main

Table 1. Characteristics of the study population (N=1,828)

	25OHD ≤ 10 ng ml ⁻¹ , N=271		10 < 25OHD ≤ 20 ng ml ⁻¹ , N=785		25OHD > 20 ng ml ⁻¹ , N=772	
	N (%)	Mean ± SD	N (%)	Mean ± SD	N (%)	Mean ± SD
<i>Gender</i>						
Men	94 (34.7)		327 (41.7)		412 (53.4)	
Women	177 (65.3)		458 (58.3)		360 (46.6)	
<i>Age (years)</i>						
< 40	12 (4.4)		42 (5.4)		48 (6.2)	
40–44	34 (12.5)		88 (11.2)		65 (8.4)	
45–49	72 (26.6)		219 (27.9)		190 (24.6)	
50–54	68 (25.1)		205 (26.1)		192 (24.9)	
55–65	85 (31.4)		231 (29.4)		277 (35.9)	
<i>Alcohol intake (g per d)</i>						
		14.1 ± 17.5		18.3 ± 20.4		21.7 ± 21.9
Quartile 1		1.7 ± 2.9		1.9 ± 3.0		2.7 ± 3.6
Quartile 2		7.8 ± 7.2		9.1 ± 7.4		11.3 ± 7.6
Quartile 3		16.9 ± 11.8		20.4 ± 12.0		21.4 ± 12.3
Quartile 4		38.9 ± 19.7		42.0 ± 23.2		47.3 ± 23.0
<i>Body mass index (kg m⁻²)</i>						
< 18.5	8 (2.9)		21 (2.7)		8 (1.0)	
≥ 18.5–<25	150 (55.4)		449 (57.2)		504 (65.3)	
≥ 25–<30	76 (28.0)		263 (33.5)		231 (29.9)	
≥ 30	37 (13.7)		52 (6.6)		29 (3.8)	
<i>Physical activity</i>						
Irregular	83 (30.6)		212 (27.0)		139 (18.0)	
< 1 h per d walking equivalent	97 (35.8)		247 (31.5)		210 (27.2)	
> 1 h per d walking equivalent	91 (33.6)		326 (41.5)		423 (54.8)	
<i>Smoking status</i>						
Never smoker	145 (53.5)		416 (53.0)		351 (45.5)	
Former smoker	96 (35.4)		269 (34.3)		330 (42.7)	
Current smoker	30 (11.1)		100 (12.7)		91 (11.8)	
<i>Educational level</i>						
Primary	68 (25.1)		181 (23.1)		162 (21.0)	
Secondary	109 (40.2)		270 (34.4)		311 (40.3)	
Superior	94 (34.7)		334 (42.5)		299 (38.7)	
<i>Menopausal status</i>						
Nonmenopausal	108 (61.0)		280 (61.1)		213 (59.2)	
Menopausal	69 (39.0)		178 (38.9)		147 (40.8)	
<i>Hormonal treatment for menopause</i>						
Yes	61 (34.5)		156 (34.1)		144 (40.0)	
<i>Dietary intake of vitamin D (µg per d)</i>						
		2.7 ± 1.8		2.8 ± 1.9		2.9 ± 2.0
<i>Latitude</i>						
		47.5 ± 1.8		47.2 ± 3.1		46.5 ± 2.1
<i>Month of blood draw</i>						
October–November	21 (7.8)		108 (13.8)		176 (22.8)	
December–January	72 (26.6)		225 (28.7)		290 (37.5)	
February–March	134 (49.4)		359 (45.7)		239 (31.0)	
April–May	44 (16.2)		93 (11.8)		67 (8.7)	
<i>Score for intensity of lifetime sun exposure</i>						
		3.2 ± 3.4		4.3 ± 3.4		5.2 ± 3.4
<i>Fitzpatrick phenotype^d</i>						
I	20 (7.4)		34 (4.3)		19 (2.5)	
II	76 (28.0)		206 (26.3)		146 (18.9)	
III	141 (52.0)		425 (54.1)		454 (58.8)	
IV	34 (12.6)		120 (15.3)		153 (19.8)	
<i>VDR Bsm1 rs154441^g</i>						
C/C (WT)	86 (35.0)		271 (36.7)		259 (36.6)	

Table 1. (Continued)

	25OHD ≤ 10 ng ml ⁻¹ , N = 271		10 < 25OHD ≤ 20 ng ml ⁻¹ , N = 785		25OHD > 20 ng ml ⁻¹ , N = 772	
	N (%)	Mean ± SD	N (%)	Mean ± SD	N (%)	Mean ± SD
C/T (HT)	111 (45.1)		332 (45.0)		321 (45.3)	
T/T (MT)	49 (19.9)		135 (18.3)		128 (18.1)	
VDR <i>FoI1</i> rs2228570/10735810 ²						
G/G (WT)	106 (39.6)		315 (40.8)		319 (42.1)	
A/G (HT)	123 (45.9)		335 (43.3)		329 (43.5)	
A/A (MT)	39 (14.5)		123 (15.9)		109 (14.4)	
VDR <i>Cdx2</i> rs11568820 ²						
C/C (WT)	147 (56.1)		434 (57.9)		430 (58.2)	
C/T (HT)	98 (37.4)		269 (35.9)		269 (36.4)	
T/T (MT)	17 (6.5)		47 (6.2)		40 (5.4)	
CYP24A1 rs48099583 ²						
T/T (WT)	179 (67.8)		544 (72.2)		497 (68.0)	
G/T (HT)	77 (29.2)		194 (25.8)		220 (30.1)	
G/G (MT)	8 (3.0)		15 (2.0)		14 (1.9)	
GC rs4588 ²						
G/G (WT)	99 (37.6)		356 (47.0)		418 (55.5)	
G/T (HT)	116 (44.1)		331 (43.7)		284 (37.7)	
T/T (MT)	48 (18.3)		71 (9.4)		51 (6.8)	
GC rs7041 ²						
A/A (WT)	73 (27.5)		167 (21.8)		130 (17.3)	
A/C (HT)	132 (49.6)		372 (48.6)		339 (45.1)	
C/C (MT)	61 (22.9)		227 (29.6)		283 (37.6)	
RXR rs7861779 ²						
C/C (WT)	183 (73.8)		562 (76.1)		556 (77.7)	
C/T (HT)	60 (24.2)		167 (22.6)		149 (20.7)	
T/T (MT)	5 (2.0)		10 (1.3)		11 (0.6)	
RXR rs12004589 ²						
G/G (WT)	200 (76.9)		582 (77.0)		593 (79.9)	
G/T (HT)	55 (21.2)		169 (22.3)		139 (18.7)	
T/T (MT)	5 (1.9)		5 (0.7)		10 (1.4)	
CASR rs1801725 ²						
G/G (WT)	174 (66.4)		543 (70.9)		538 (71.9)	
G/T (HT)	83 (31.7)		201 (26.2)		195 (26.1)	
T/T (MT)	5 (1.9)		22 (2.9)		15 (2.0)	
CASR rs4678174 ²						
T/T (WT)	126 (49.2)		356 (48.3)		368 (50.9)	
C/T (HT)	107 (41.8)		313 (42.5)		283 (39.1)	
C/C (MT)	23 (9.0)		68 (9.2)		72 (10.0)	
Plasma 25OHD concentration (ng ml ⁻¹)		7.6 ± 1.6		15.0 ± 2.8		29.6 ± 8.4
Plasma PTH concentration (ng l ⁻¹)		30.4 ± 11.7		26.4 ± 9.3		24.7 ± 7.9

Abbreviations: HT, heterozygous type; MT, homozygous mutant type; PTH, parathyroid hormone; WT, wild type; 25OHD, 25-hydroxyvitamin D.

¹I: always burns, never tans; II: burns easily, tans minimally; III: burns moderately, tans uniformly; and IV: burns minimally, always tans well.

²Missing data were as follows: 136 (rs1544410), 30 (rs2228570/10735810), 77 (rs11568820), 80 (rs4809958), 54 (rs4588), 44 (rs7041), 125 (rs78617793), 70 (rs120045893), 52 (rs18017253), and 112 (rs46781743). For nongenetic covariates, <5% of values were missing and were replaced by the mode.

associations with vitamin D status were maintained in all models (for gender, alcohol intake, body mass index (BMI), physical activity, latitude, month of blood draw, intensity of sun exposure, GC rs4588, and GC rs7041), whereas weaker

associations (for age and Fitzpatrick phototype) were not (data not shown).

Higher PTH concentrations were associated with older age ($P=0.008$), higher BMI ($P=0.007$), lower dietary vitamin D

Table 2. Associations between 25OHD status (three classes) and nongenetic factors, SU.VI.MAX cohort, France (N=1,828)

	n	>10–≤20 vs. >20 ngml ⁻¹		≤10 vs. >20 ngml ⁻¹		P ¹
		OR	95% CI	OR	95% CI	
Gender						
Men	833	1.0		1.0		<0.0001 [§]
Women	995	1.8	1.3–2.5	2.6	1.6–4.3	
Age (years)						
<40	102	1.0		1.0		0.2 [§]
40–44	187	1.6	0.9–2.8	2.3	1.0–5.3	
45–49	481	1.7	1.1–2.9	2.3	1.1–4.9	
50–54	465	1.9	1.1–3.1	2.8	1.3–6.1	
55–65	593	1.5	0.9–2.5	2.5	1.1–5.4	
Alcohol intake²						
Quartile 1	456	1.0		1.0		0.006
Quartile 2	457	0.9	0.6–1.2	0.9	0.6–1.4	
Quartile 3	458	0.8	0.6–1.1	0.6	0.4–0.9	
Quartile 4	457	0.8	0.6–1.1	0.5	0.3–0.8	
Body mass index (kgm⁻²)						
<18.5	37	2.6	1.1–6.2	3.1	1.1–9.2	<0.0001 [§]
≥18.5–<25	1,103	1.0		1.0		
≥25–<30	570	1.4	1.1–1.9	1.3	0.9–1.8	
≥30	118	2.0	1.2–3.3	3.9	2.2–7.0	
Physical activity						
Irregular	434	1.0		1.0		<0.0001
<1 h per d walking equivalent	554	0.8	0.6–1.1	0.9	0.6–1.3	
≥1 h per d walking equivalent	840	0.6	0.4–0.7	0.4	0.3–0.7	
Smoking status						
Never smoker	912	1.0		1.0		0.3 [§]
Former smoker	695	0.8	0.6–1.0	1.0	0.7–1.5	
Current smoker	221	1.0	0.7–1.5	1.1	0.7–1.9	
Educational level						
Primary	411	1.0		1.0		0.3
Secondary	690	0.7	0.5–1.0	0.7	0.5–1.1	
Superior	727	0.98	0.7–1.3	0.7	0.5–1.1	
Dietary intake of vitamin D²						
Quartile 1	456	1.0		1.0		0.7
Quartile 2	457	1.2	0.9–1.7	0.9	0.6–1.4	
Quartile 3	458	1.1	0.8–1.5	1.0	0.6–1.5	
Quartile 4	457	1.0	0.7–1.3	0.8	0.5–1.2	
Latitude²						
Quartile 1	459	1.0		1.0		<0.0001
Quartile 2	478	1.1	0.8–1.4	1.0	0.6–1.7	
Quartile 3	424	1.7	1.3–2.4	2.3	1.5–3.8	
Quartile 4	467	2.1	1.5–2.9	3.2	2.0–5.0	
Month of blood draw						
October–November	305	1.0		1.0		<0.0001
December–January	587	1.3	0.9–1.8	2.3	1.3–4.0	

Table 2. (Continued)

	n	>10–≤20 vs. >20 ngml ⁻¹		≤10 vs. >20 ngml ⁻¹		P ¹
		OR	95% CI	OR	95% CI	
February–March	732	2.4	1.8–3.3	4.8	2.8–8.2	
April–May	204	1.7	1.1–2.7	3.7	1.9–7.0	
Intensity of lifetime sun exposure ²						<0.0001
Quartile 1	364	1.0		1.0		
Quartile 2	589	0.7	0.5–1.0	0.4	0.3–0.6	
Quartile 3	391	0.5	0.4–0.7	0.2	0.1–0.4	
Quartile 4	484	0.5	0.3–0.6	0.2	0.1–0.3	
Fitzpatrick phototype ³						0.04
I	73	1.0		1.0		
II	428	0.9	0.5–1.8	0.7	0.3–1.5	
III	1020	0.8	0.4–1.5	0.7	0.3–1.5	
IV	307	0.7	0.3–1.3	0.4	0.2–1.0	

Abbreviations: CI, confidence interval; OR, odds ratio; 25OHD, 25-hydroxyvitamin D.

Three classes of 25OHD status: deficiency, ≤10 ngml⁻¹/insufficiency, 10 < 25OHD ≤ 20 ngml⁻¹/reference = normal status, 25OHD > 20 ngml⁻¹.

¹P non-trend (̂) or P for linear trend from a multivariate model of unconditional polytomous logistic regression including all studied nongenetic factors and adjusted for the number of dietary records. Polytomous logistic regression models permit estimation of simultaneous odds in a single model. The three 25OHD categories were modeled as a nominal dependent variable.

²Cutoffs for quartiles of continuous variables were as follow: alcohol intake (g per d), 11.3/24.0/42.8 in men and 1.4/5.8/15.4 in women; vitamin D intake (̑g per d), 1.7/2.7/4.1 in men and 1.4/2.1/3.3 in women; latitude (°), 45.4/48/48.5; and intensity of lifetime exposure (score, 0–10), 1.7/4.4/8.2.

³I: always burns, never tans; II: burns easily, tans minimally; III: burns moderately, tans uniformly; and IV: burns minimally, always tans well. Only these four phototypes were represented in this Caucasian population.

intake ($P=0.0003$), higher latitude ($P<0.0001$), and blood draw in winter/early spring ($P<0.0001$; Supplementary Table 3 online). None of the tested SNPs was associated with PTH concentrations (data not shown).

DISCUSSION

This study investigated a wide range of potential determinants of vitamin D status simultaneously in a same data set. In this large middle-aged Caucasian population, female gender, under- and overweight, low physical activity, low sun exposure, lower alcohol intake, homozygous mutant type of the GC rs4588, and wild type of the GC rs7041 SNPs were independently associated with low plasma 25OHD concentrations and thus higher risk of 25OHD deficiency.

As usually observed (Hintzpeter *et al.*, 2008; Mithal *et al.*, 2009; van der Wielen *et al.*, 1995), women were at higher risk of 25OHD deficiency and insufficiency. Also consistent with previous publications (Bertrand *et al.*, 2012; Greene-Finestone *et al.*, 2011; Daly *et al.*, 2012), overweight and obesity were associated with higher risk of vitamin D deficiency. In an intervention study on overweight/obese post-menopausal women (Mason *et al.*, 2011), weight loss was associated with an increase in serum 25OHD concentration, strengthening the plausibility of a causal association. The relationship between underweight ($BMI < 18.5 \text{ kg m}^{-2}$) and vitamin D status has been poorly documented in the literature, but our result of an inverse association is consistent with available knowledge (Hintzpeter *et al.*, 2008).

Higher latitude (associated with lower amounts of sunshine), winter/early spring season, and low sun exposure (Major *et al.*, 2013; Holick, 2007; Saquib *et al.*, 2006) have been associated with higher risk of 25OHD deficiency in the literature, consistent with our findings. Although many studies used time spent exercising or outdoors in the garden (Lucas *et al.*, 2005) or leisure-time physical activity (Giovannucci *et al.*, 2006) as surrogate markers of sunshine exposure, our study collected detailed information about usual practices of sun exposure (intensity, length, frequency, protection habits, and so on) compiled into a validated score (Guinot *et al.*, 2001; Ezzedine *et al.*, 2008, 2013; Elfakir *et al.*, 2010). Interestingly, improvement of vitamin D status was observed starting from the second quartile of the score of sun exposure and was relatively stable over the third and fourth quartiles. These results suggest that even low daily-life sun exposure behaviors contribute to increase vitamin D synthesis and improve 25OHD concentrations. Definitely, such findings are compatible with recommendations to avoid excessive and active sun exposure for the prevention of UV damage and skin cancers.

A positive linear association was observed between physical activity and plasma 25OHD concentrations in our study, consistent with previous literature (Thuesen *et al.*, 2012; Engelman *et al.*, 2013; Berger *et al.*, 2012). Interestingly, this result was adjusted for sun exposure and remained statistically significant even after adjustment for the practice of outdoor hobbies or sports (mountain or nautical). This suggests that

Table 3. Associations between 25OHD status (three classes) and 10 selected SNPs, SU.VI.MAX cohort, France (N = 1,828)

	n	>10-≤20 vs. >20 ng ml ⁻¹		≤10 vs. >20 ng ml ⁻¹		P-trend ¹
		OR	95% CI	OR	95% CI	
VDR Bsm1 rs1544410²						
WT	616	1.0		1.0		0.6
HT	764	1.0	0.8-1.3	1.1	0.7-1.5	
MT	312	1.0	0.7-1.4	1.2	0.8-1.9	
VDR FokI rs2228570/10735810²						
WT	740	1.0		1.0		0.6
HT	787	1.0	0.8-1.3	1.1	0.8-1.6	
MT	271	1.1	0.8-1.6	1.1	0.7-1.8	
VDR Cdx2 rs11568820²						
WT	1,011	1.0		1.0		0.9
HT	636	1.0	0.8-1.2	1.1	0.8-1.5	
MT	104	1.2	0.7-1.9	1.2	0.6-2.3	
CYP24A1 rs4809958²						
WT	1,220	1.0		1.0		0.2
HT	491	0.8	0.6-1.0	1.0	0.7-1.4	
MT	37	1.0	0.4-2.1	1.4	0.5-3.9	
GC rs4588²						
WT	873	1.0		1.0		<0.0001
HT	731	1.5	1.2-1.9	2.0	1.5-2.9	
MT	170	1.8	1.2-2.8	4.9	3.0-8.1	
GC rs7041²						
WT	370	1.0		1.0		<0.0001
HT	843	0.8	0.6-1.0	0.6	0.4-1.0	
MT	571	0.6	0.4-0.7	0.3	0.2-0.5	
RXR rs7861779²						
WT	1,301	1.0		1.0		0.8
HT	376	1.1	0.8-1.4	1.2	0.8-1.8	
MT	26	1.0	0.4-2.4	1.2	0.4-4.3	
RXR rs12004589²						
WT	1,375	1.0		1.0		0.8
HT	363	1.1	0.9-1.5	1.1	0.8-1.6	
MT	20	0.5	0.2-1.7	1.3	0.4-4.8	
CASR rs1801725²						
WT	1,255	1.0		1.0		0.3
HT	479	1.1	0.9-1.4	1.5	1.0-2.1	
MT	42	1.3	0.7-2.7	0.8	0.3-2.5	
CASR rs4678174²						
WT	850	1.0		1.0		0.7
HT	703	1.3	1.0-1.6	1.3	0.9-1.8	
MT	163	0.9	0.6-1.4	0.8	0.4-1.4	

Abbreviations: CI, confidence interval; HT, heterozygous type; MT, homozygous mutant type; OR, odds ratio; SNPs, single nucleotide polymorphisms; WT, wild type; 25OHD, 25-hydroxyvitamin D.

Three classes of 25OHD status: deficiency, ≤10 ng ml⁻¹/insufficiency, 10<25OHD≤20 ng ml⁻¹/reference = normal status, 25OHD>20 ng ml⁻¹.

¹P for linear trend from multivariate models of unconditional polytomous logistic regression adjusted for sex, age, alcohol intake, body mass index, physical activity, smoking status, educational level, number of dietary records, vitamin D dietary intake, latitude of the living city, month of blood draw, intensity of lifetime sun exposure, and Fitzpatrick phototype. One model was computed for each SNP. Polytomous logistic regression models permit estimation of simultaneous odds in a single model. The three 25OHD categories were modeled as a nominal dependent variable.

²n for missing data were as follows: 136 (rs1544410), 30 (rs2228570/10735810), 77 (rs11568820), 80 (rs4809958), 54 (rs4588), 44 (rs7041), 125 (rs7861779), 70 (rs12004589), 52 (rs1801725), and 112 (rs4678174).

physical activity as such (and not only via sun exposure during such activities) could be causally associated with better vitamin D status, as supported by the few studies in which both exposures were measured simultaneously (Brock *et al.*, 2010; Bell *et al.*, 1988).

In our population study, alcohol intake (which was moderate) was positively correlated with vitamin D status. Although excessive alcohol intake has been associated with lower 25OHD concentrations (Bjorneboe *et al.*, 1986), the same positive association between moderate alcohol intake and better vitamin D status has been observed in several previous studies (Bertrand *et al.*, 2012; Saquib *et al.*, 2006; Shirazi *et al.*, 2013; Thuesen *et al.*, 2012; Engelman *et al.*, 2013; Larose *et al.*, 2014; McCullough *et al.*, 2010; Lee *et al.*, 2012). Whether this relationship is causal or only due to residual confounding remains unclear. However, it remained significant even after extensive adjustment for potential confounders. Consistently, several studies showed that bone mineral density was higher among moderate alcohol consumers (Orwoll *et al.*, 2000; Saquib *et al.*, 2006). The biochemical processes underlying the relationship between alcohol and vitamin D concentrations are complex. One possible hypothesis is that alcohol might be a suppressor of PTH secretion and thus responsible for a decrease in serum conversion of 25OHD to 1,25-dihydroxyvitamin D (Tumer *et al.*, 1988; McCarty and Thomas, 2003). Unconverted 25OHD may be responsible for higher serum 25OHD concentrations. However, even if a causal association is confirmed by future studies, alcohol intake, even moderate, should evidently not be recommended as a lever for vitamin D status improvement, because of its adverse effects on other health outcomes such as cancers (AICR/WCRF, 2007).

Several methodological reasons, such as the potentially nonlinear association of 25OHD levels at the low range and the inaccuracies inherent in assessing dietary intake, may explain the null association between dietary vitamin D intake and 25OHD concentrations. However, mean daily dietary vitamin D intake in our study population (2.9 µg per day) was below the daily recommended intake of 5 µg per day for French adults <75 years and far below international recommendations (Institute of Medicine, 2011), some groups recommending at least 20 µg per day of dietary/supplemental vitamin D intake (Brouwer-Brolsma *et al.*, 2013). This probably largely explains why we did not observe any association between dietary vitamin D intake and 25OHD plasma concentrations, consistent with several studies in Europe (Thuesen *et al.*, 2012; Perna *et al.*, 2012; van der Wielen *et al.*, 1995). Indeed, in France, dietary sources of vitamin D are more limited than in other countries where dietary vitamin D intake is positively associated with vitamin D status (Freedman *et al.*, 2013; Snellman *et al.*, 2009; Zgaga *et al.*, 2011). As some foods fortified with vitamin D (such as vegetable oils) appeared on the French market in the last decade, it would be useful to re-conduct this study for data update. However, as previously underlined, mean daily vitamin D intake in our study was very similar to the level observed in a recent French national survey (2.6 µg per day; Dubuisson *et al.*, 2010).

Dietary supplement use was not allowed for participants of the SU.VI.MAX (SUplémentation en Vitamines et Minéraux AntioXydants) trial; thus, an impact of the use of such products on vitamin D status could not be investigated. However, a few subjects ($n=12$, excluded from the present analysis) took medication containing vitamin D. Their status was substantially higher than non-supplemented subjects (35.1 vs. 20.0 ng ml⁻¹, data not shown).

The GC gene contains at least six nonsynonymous SNPs, two with relatively common frequency (McCullough *et al.*, 2009; rs7041 and rs4588, with respective minor allele frequency C=0.386/840 and T=0.216/471 according to the 1000GENOMES database). These two SNPs were strongly and independently associated with vitamin D status in our population study. Both rs7041 and rs4588 were also associated with vitamin D status in some previous studies (Trummer *et al.*, 2012; Engelman *et al.*, 2008, 2013; Ahn *et al.*, 2010). The vitamin D-binding protein, encoded by the GC gene, belongs to the albumin family. It greatly facilitates vitamin D actions by carrying vitamin D metabolites to various sites of action, and polymorphic vitamin D-binding proteins differ in their affinities for 25OHD (Powe *et al.*, 2013).

Overall, results on PTH correlates were consistent with those on 25OHD. However, although dietary intake of vitamin D was poorly correlated with 25OHD status, the association seemed stronger regarding PTH (inverse association). Additional epidemiological and experimental studies are needed to further elucidate this result.

In terms of public health, the interest of our results is that several modifiable risk factors of vitamin D deficiency were identified. A substantial potential impact (+32.7%) on increasing vitamin D status was observed for normal weight compared with obese subjects. Consistently, Vimalleswaran *et al.* (2013) recently demonstrated the causality of this association by a bidirectional Mendelian randomization analysis of multiple cohorts and concluded that population level interventions to reduce BMI are expected to decrease the prevalence of vitamin D deficiency. Other potential impacts of modifiable risk factors were +15% of 25OHD concentrations for those who practiced at least 1 h per day walking equivalent compared with irregular physical activity and +16.3% for low-to-moderate daily-life sun exposure (quartile 2 of the score) compared with no sun exposure at all (quartile 1).

Some limitations should be acknowledged. First, caution is needed when extrapolating our results to the entire middle-aged Caucasian French population. Indeed, our subjects were volunteers participating in a nutritional intervention study (Hercberg *et al.*, 2004) who generally had a higher educational level and occupational status compared with the general population. However, the mean plasma 25OHD concentration observed in this study (20.0 ng ml⁻¹) was very close to the value observed in a French nationally representative survey conducted in 2006–2007 on adults aged ≥18 years (23.2 ng ml⁻¹; Castetbon *et al.*, 2009), although slightly lower probably because of an overall older age of our study population and the use of a different kit for the 25OHD assay. Next, measurements of 25OHD concentrations were not taken by a mass spectrometry method, and there were no

data available on the vitamin D-binding protein. However, the Roche Vitamin D Total assay is judged suitable for measurement of total 25OHD in serum and Li-heparin plasma (Knudsen *et al.*, 2012). Finally, other genes such as *CYP2R1* or *NADSYN1* could also influence vitamin D status (Hiraki *et al.*, 2013; Wang *et al.*, 2010; Engelman *et al.*, 2013; Ahn *et al.*, 2010; Bu *et al.*, 2010), for which no data were available in our study.

In conclusion, this study provided an overall picture of potential determinants of vitamin D status in the same data set, including detailed data on sun exposure, dietary intake of vitamin D, genetic polymorphisms, and sociodemographic and lifestyle factors collected on a large sample of French middle-aged adults. This approach allowed identifying several factors that independently modulate vitamin D status. Some key determinants pertained to non-modifiable risk factors such as gender, age, and main polymorphisms of the *GC* gene. Although dietary vitamin D intake seemed to have low influence on vitamin D status, several modifiable factors were identified, such as daily-life sun exposure (efficient even at low levels), physical activity, and normal-weight maintenance. These factors should be targeted by public health policies in order to improve vitamin D status of the general population, while avoiding active/intensive sun exposure, in line with recommendations for skin cancer prevention.

MATERIALS AND METHODS

Study population

The SU.VI.MAX study is a population-based, double-blind, placebo-controlled, randomized trial (Trial Registration clinicaltrials.gov NCT00272428) initially designed to assess the effect of a 7.5-year daily antioxidant supplementation on the incidence of cardiovascular disease and cancer (Herberg *et al.*, 2004). A total of 13,017 participants were enrolled in 1994–1995. All of them provided written informed consent. The study was conducted according to the Declaration of Helsinki guidelines and was approved by the Ethical Committee for Studies with Human Subjects at the Paris-Cochin Hospital (CCPPRB n°706) and the “Commission Nationale de l’Informatique et des Libertés” (CNIL n°334641). Participants were advised not to take any spontaneous supplementation during the study period. Health events were self-declared by participants during follow-up. All information was reviewed by an independent expert committee, and cases were validated by pathological report.

A nested case-control study was set up to investigate the association between vitamin D status and cancer risk and thus included all first primary incident cancer cases diagnosed between 1994 and 2007 ($n=928$) and two matched controls per case ($n=1,850$). Controls were randomly selected among the participants of identical sex, age, intervention group, and season of blood draw and without cancer diagnosis by the end of follow-up. The present study focuses on the controls of this nested case-control study. Baseline data collection has been described elsewhere (Herberg *et al.*, 2004) and is detailed in Supplementary Materials and Methods 1 online.

Plasma 25OHD and PTH concentrations’ assessment

Baseline (1994) plasma samples were used to determine the concentrations of 25OHD and PTH. Total plasma 25OHD assay was performed using Roche Cobas electrochemoluminescent immunoassay (Roche Diagnostics, Meylan, France), based on the principle of competitive binding. Eight samples of known 25OHD concentrations were tested in 42 separate assays to assess interassay precision. Eight samples of known concentrations were tested 21 times in the same assay to assess intraassay precision. The intraassay and interassay coefficients of variation were <10%. 25OHD had an intraassay coefficient of variation equal to 4.5% and an interassay coefficient of variation equal to 6.6%.

Plasma PTH concentration was assessed with the Roche Cobas electrochemoluminescent immunometric assay (Roche Diagnostics; Rakel *et al.*, 2005).

Genotyping and quality control

One-to-three SNPs were selected for each gene of interest (*VDR*, *CYP24A1*, *GC*, *RXR*, and *CASR*) on the basis of two criteria: (1) most common polymorphisms in Caucasian populations (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/guide/howto/viewgen-freq/>) and (2) predicted functional effect according to the PUPA database (<http://snpeffect.vib.be> and <http://pupasuite.bioinfo.cipf.es/>). Genomic DNA was extracted from each patient’s mononuclear cells in peripheral blood using a MagNA Pure Compact Instrument with a magnetic-bead technology for the isolation process according to the manufacturer’s instructions (Roche Diagnostics). Genetic polymorphisms were assessed by allelic discrimination using fluorogenic probes and the 5’ nuclease (TaqMan) assay (Applied Biosystems, Foster City, CA). Quality control of genotyping was carried out for each SNP by investigating any departure from Hardy–Weinberg equilibrium and comparing observed distributions to those of European reference populations: CSHL-HapMap-CEU and 1000GENOMES-phase_1_EUR (<http://www.ensembl.org/>) by χ^2 -tests.

Statistical analyses

Among the 1,850 eligible participants, several were excluded for taking a medication containing vitamin D ($n=12$), antecedent of epilepsy ($n=3$), chronic renal failure ($n=3$), or less than two dietary records provided within the first 2 years of the study ($n=4$). Thus, 1,828 subjects remained for analysis.

The dwelling latitude of the administrative center was retrieved for each department of living (metropolitan France). Participants completed a 14-item questionnaire on lifetime sun exposure and protection behaviors, specifically developed in the context of the SU.VI.MAX study, with six questions investigating awareness of risks related to sun exposure. Following, a validated score of intensity of lifetime sun exposure was computed by principal component analysis for each participant (continuous variable; Guinot *et al.*, 2001; Ezzedine *et al.*, 2008, 2013; Elfakir *et al.*, 2010). In addition, as described in a previous publication (Guinot *et al.*, 2001), three additional scores, related both to sun exposure and physical activity dimensions, were also computed (continuous variables): practice of mountain sports, nautical sports, and outdoor hobbies.

Associations between vitamin D status and the following parameters were assessed: gender, age, BMI (BMI = weight/height²), physical activity, smoking status, educational level, sex-specific quartiles of dietary intakes of vitamin D and alcohol, latitude, score of intensity of lifetime sun exposure, Fitzpatrick phototype, and month of blood draw. Multivariate models included all these variables and were additionally adjusted for the number of dietary records provided by the subjects. We verified that all tolerance measures were ≥ 0.7 , indicating no collinearity problem between covariates (Menard, 2002; O'Brien, 2007). 25OHD plasma concentration was first considered as a continuous variable in multivariate linear regression models. A Box-Cox transformation was applied to the continuous 25OHD variable to improve normality. Then, the probabilities of 25OHD deficiency ($\leq 10 \text{ ng ml}^{-1}$) and insufficiency ($> 10 - \leq 20 \text{ ng ml}^{-1}$) were modeled by unconditional multivariate polytomous logistic regression analysis (Engel, 1988; reference category = 'normal' status, i.e., $> 20 \text{ ng ml}^{-1}$; 25OHD status treated as a nominal variable). These thresholds were based on the US Institute of Medicine's recommendations for the general population (Institute of Medicine, 2011). Odds ratios (ORs) and 95% CIs were computed. Associations between scores of mountain and nautical sports and outdoor hobbies and vitamin D status were investigated in multivariate models that included all previously cited variables.

Associations between each SNP (coded as wild/heterozygous/mutant types) and vitamin D status were assessed separately by linear regression and polytomous logistic regression models adjusted for all previously mentioned nongenetic factors.

As 25OHD and PTH are known to be inversely correlated and may both be associated with the study covariates (Pilz et al., 2012; Touvier et al., 2014), we have also performed the same linear regression models with PTH instead of 25OHD concentration.

All statistical tests were two sided, and $P < 0.05$ was considered significant and was not adjusted for multiple testing. All analyses were performed with SAS software (v9.3, Cary, NC).

CONFLICT OF INTEREST

The authors state no conflict of interest.

ACKNOWLEDGMENTS

This work was supported by a grant from the French Research Institute for Public Health (IRESP N°AAR2 01 206) and Mélanie Deschaseaux was funded by a PhD grant from the Cancéropôle Ile-de-France (public funding from the Paris region). We thank Younes Esseddik, Paul Flanzky, Mohand Alt Oufella, Yasmina Chelghoum, and Than Duong Van (computer scientists); Florence Charpentier (dietitian); Nathalie Arnault, Véronique Gourlet, Fabien Szabo, Laurent Bourhis, and Stephen Besseau (statisticians); and Rachida Mehroug (logistics assistant) for their technical contribution to the SU.VI.MAX study. We also thank Emmanuelle Mauger for her contribution to the data management and computation of the sun exposure questionnaire. The work was done in Bobigny, France.

DISCLAIMER

The funders had no role in the design, implementation, analysis, or interpretation of the data.

SUPPLEMENTARY MATERIAL

Supplementary material is linked to the online version of the paper at <http://www.nature.com/jid>

REFERENCES

- Ahn J, Yu K, Stolzenberg-Solomon R et al. (2010) Genome-wide association study of circulating vitamin D levels. *Hum Mol Genet* 19:2739-45
- AICRAWCRF (2007) *Food, Nutrition, Physical Activity and the Prevention of Cancer: a Global Perspective*. AICR: Washington, DC
- Bell NH, Codsden RN, Henry DP et al. (1988) The effects of muscle-building exercise on vitamin D and mineral metabolism. *J Bone Miner Res* 3:369-73
- Berger C, Greene-Finestone LS, Langsetmo L et al. (2012) Temporal trends and determinants of longitudinal change in 25-hydroxyvitamin D and parathyroid hormone levels. *J Bone Miner Res* 27:1381-9
- Bertrand KA, Giovannucci E, Liu Y et al. (2012) Determinants of plasma 25-hydroxyvitamin D and development of prediction models in three US cohorts. *Br J Nutr* 108:1889-96
- Bjorneboe GE, Johnsen J, Bjorneboe A et al. (1986) Effect of alcohol consumption on serum concentration of 25-hydroxyvitamin D₃, retinol, and retinol-binding protein. *Am J Clin Nutr* 44:678-82
- Bouillon R (2010) Genetic and environmental determinants of vitamin D status. *Lancet* 376:148-9
- Brock K, Huang WY, Fraser DR et al. (2010) Low vitamin D status is associated with physical inactivity, obesity and low vitamin D intake in a large US sample of healthy middle-aged men and women. *J Steroid Biochem Mol Biol* 121:462-6
- Brouwer-Brolsma EM, Bischoff-Ferrari HA, Bouillon R et al. (2013) Vitamin D: do we get enough? A discussion between vitamin D experts in order to make a step towards the harmonisation of dietary reference intakes for vitamin D across Europe. *Osteoporos Int* 24:1567-77
- Bu FX, Armas L, Lappe J et al. (2010) Comprehensive association analysis of nine candidate genes with serum 25-hydroxy vitamin D levels among healthy Caucasian subjects. *Hum Genet* 128:549-56
- Castelbon K, Vernay M, Malon A et al. (2009) Dietary intake, physical activity and nutritional status in adults: the French nutrition and health survey (ENNS, 2006-2007). *Br J Nutr* 102:733-43
- Daly RM, Gagnon C, Lu ZX et al. (2012) Prevalence of vitamin D deficiency and its determinants in Australian adults aged 25 years and older: a national, population-based study. *Clin Endocrinol (Oxf)* 77:26-35
- Dubuisson C, Lioret S, Touvier M et al. (2010) Trends in food and nutritional intakes of French adults from 1999 to 2007: results from the INCA surveys. *Br J Nutr* 103:1035-48
- Efakir A, Ezzedine K, Latreille J et al. (2010) Functional MCTR-gene variants are associated with increased risk for severe photoaging of facial skin. *J Invest Dermatol* 130:1107-15
- Engel J (1988) Polytomous logistic regression. *Stat Neerl* 42:233-52
- Engelman CD, Fingerlin TE, Langefeld CD et al. (2008) Genetic and environmental determinants of 25-hydroxyvitamin D and 1,25-dihydroxyvitamin D levels in Hispanic and African Americans. *J Clin Endocrinol Metab* 93:3381-8
- Engelman CD, Meyers KJ, Iyengar SK et al. (2013) Vitamin D intake and season modify the effects of the GC and CYP2R1 genes on 25-hydroxyvitamin D concentrations. *J Nutr* 143:17-26
- Ezzedine K, Malvy D, Mauger E et al. (2008) Artificial and natural ultraviolet radiation exposure: beliefs and behaviour of 7200 French adults. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 22:186-94
- Ezzedine K, Mauger E, Latreille J et al. (2013) Freckles and solar lentigines have different risk factors in Caucasian women. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 27:e345-56
- Freedman DM, Cahoon EK, Rajaraman P et al. (2013) Sunlight and other determinants of circulating 25-hydroxyvitamin D levels in black and white participants in a nationwide U.S. study. *Am J Epidemiol* 177:180-92
- Giovannucci E, Liu Y, Rimm EB et al. (2006) Prospective study of predictors of vitamin D status and cancer incidence and mortality in men. *J Natl Cancer Inst* 98:451-9
- Glossman HH (2013) Oral supplementation with calcitriol, calcidiol, vitamin D₃ or moderate sun exposure? *J Invest Dermatol* 133:2648-9
- Greene-Finestone LS, Berger C, de Groh M et al. (2011) 25-Hydroxyvitamin D in Canadian adults: biological, environmental, and behavioral correlates. *Osteoporos Int* 22:1389-99

- Guinot C, Malvy D, Latreille J *et al.* (2001) Sun exposure behaviour of a general adult population in France. In: Monduzzi (ed) *Skin and Environment—Perception and Protection*. Monduzzieditore: Bologna, 1099–106
- Herberg S, Galan P, Preziosi P *et al.* (2004) The SU.VI.MAX study: a randomized, placebo-controlled trial of the health effects of antioxidant vitamins and minerals. *Arch Intern Med* 164:2335–42
- Hintzpete B, Mensink GB, Thierfelder W *et al.* (2008) Vitamin D status and health correlates among German adults. *Eur J Clin Nutr* 62:1079–89
- Hiraki LT, Major JM, Chen C *et al.* (2013) Exploring the genetic architecture of circulating 25-hydroxyvitamin D. *Genet Epidemiol* 37:92–8
- Holick MF (2007) Vitamin D deficiency. *N Engl J Med* 357:266–81
- Institute of Medicine (2011) *Dietary Reference Intakes for Calcium and Vitamin D*. The National Academies Press: Washington, DC
- Knudsen CS, Nexø E, Hojkskov CS *et al.* (2012) Analytical validation of the Roche 25-OH Vitamin D Total assay. *Clin Chem Lab Med* 50:1965–8
- Larose TL, Chen Y, Camargo CA Jr *et al.* (2014) Factors associated with vitamin D deficiency in a Norwegian population: the HUNT Study. *J Epidemiol Community Health* 68:165–70
- Lee K (2012) Sex-specific relationships between alcohol consumption and vitamin D levels: The Korea National Health and Nutrition Examination Survey 2009. *Nutr Res Pract* 6:86–90
- Lehmann B, Querings K, Reichrath J (2004) Vitamin D and skin: new aspects for dermatology. *Exp Dermatol* 13(Suppl 4):11–5
- Lucas JA, Bolland MJ, Grey AB *et al.* (2005) Determinants of vitamin D status in older women living in a subtropical climate. *Osteoporos Int* 16:1641–8
- Major JM, Graubard BI, Dodd KW *et al.* (2013) Variability and reproducibility of circulating vitamin D in a nationwide U.S. population. *J Clin Endocrinol Metab* 98:97–104
- Mason C, Xiao L, Imai Y *et al.* (2011) Effects of weight loss on serum vitamin D in postmenopausal women. *Am J Clin Nutr* 94:95–103
- McCarty MF, Thomas CA (2003) PTH excess may promote weight gain by impeding catecholamine-induced lipolysis—implications for the impact of calcium, vitamin D, and alcohol on body weight. *Med Hypotheses* 61:535–42
- McCullough ML, Bostick RM, Mayo TL (2009) Vitamin D gene pathway polymorphisms and risk of colorectal, breast, and prostate cancer. *Annu Rev Nutr* 29:111–32
- McCullough ML, Weinstein SJ, Freedman DM *et al.* (2010) Correlates of circulating 25-hydroxyvitamin D: Cohort Consortium Vitamin D Pooling Project of Rarer Cancers. *Am J Epidemiol* 172:21–35
- Menard S (2002) *Applied Logistic Regression Analysis*. 2nd edn. Sage Publications: Thousand Oaks, CA
- Mithal A, Wahl DA, Bonjour JP *et al.* (2009) Global vitamin D status and determinants of hypovitaminosis D. *Osteoporos Int* 20:1807–20
- O'Brien RM (2007) A caution regarding rules of thumb for variance inflation factors. *Qual Quant* 41:673–90
- Orwoll ES, Bevan L, Phipps KR (2000) Determinants of bone mineral density in older men. *Osteoporos Int* 11:815–21
- Perna L, Haug U, Schottker B *et al.* (2012) Public health implications of standardized 25-hydroxyvitamin D levels: a decrease in the prevalence of vitamin D deficiency among older women in Germany. *Prev Med* 55:228–32
- Petersen B, Wulf HC, Triguero-Mas M *et al.* (2014) Sun and ski holidays improve vitamin D status, but are associated with high levels of DNA damage. *J Invest Dermatol*; e-pub ahead of print 10 July 2014 (doi:10.1038/jid.2014.223)
- Pilz S, Kienreich K, Stuckler D *et al.* (2012) Associations of sun exposure with 25-hydroxyvitamin D and parathyroid hormone levels in a cohort of hypertensive patients: The Graz Endocrine Causes of Hypertension (GECOH) Study. *Int J Endocrinol* 2012:732636
- Powe CE, Evans MK, Wenger J *et al.* (2013) Vitamin D-binding protein and vitamin D status of black Americans and white Americans. *N Engl J Med* 369:1991–2000
- Rakel A, Brossard JH, Patenaude JV *et al.* (2005) Overproduction of an amino-terminal form of PTH distinct from human PTH(1–84) in a case of severe primary hyperparathyroidism: influence of medical treatment and surgery. *Clin Endocrinol (Oxf)* 62:721–7
- Reichrath J (2007) Vitamin D and the skin: an ancient friend, revisited. *Exp Dermatol* 16:618–25
- Rosen CJ (2011) Clinical practice. Vitamin D insufficiency. *N Engl J Med* 364:248–54
- Saquiib N, von MD, Garland CF *et al.* (2006) Serum 25-hydroxyvitamin D, parathyroid hormone, and bone mineral density in men: the Rancho Bernardo study. *Osteoporos Int* 17:1734–41
- Shirazi L, Almquist M, Malm J *et al.* (2013) Determinants of serum levels of vitamin D: a study of life-style, menopausal status, dietary intake, serum calcium, and PTH. *BMC Womens Health* 13:33
- Snellman G, Melhus H, Gedeborg R *et al.* (2009) Seasonal genetic influence on serum 25-hydroxyvitamin D levels: a twin study. *PLoS One* 4:e7747
- Thuesen B, Husemoen L, Fenger M *et al.* (2012) Determinants of vitamin D status in a general population of Danish adults. *Bone* 50:605–10
- Touvier M, Chan DS, Lau R *et al.* (2011) Meta-analyses of vitamin D intake, 25-hydroxyvitamin D status, vitamin D receptor polymorphisms, and colorectal cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 20:1003–16
- Touvier M, Deschasaux M, Montourcy M *et al.* (2014) Interpretation of plasma PTH concentrations according to 25OHD status, gender, age, weight status, and calcium intake: importance of the reference values. *J Clin Endocrinol Metab* 99:1196–203
- Trummer O, Schwetz V, Walter-Finell D *et al.* (2012) Allelic determinants of vitamin D insufficiency, bone mineral density, and bone fractures. *J Clin Endocrinol Metab* 97:E1234–40
- Turner RT, Aloia RC, Segel LD *et al.* (1988) Chronic alcohol treatment results in disturbed vitamin D metabolism and skeletal abnormalities in rats. *Alcohol Clin Exp Res* 12:159–62
- van der Wielen RP, Lowik MR, van den Berg H *et al.* (1995) Serum vitamin D concentrations among elderly people in Europe. *Lancet* 346:207–10
- Vimalaewaran KS, Berry DJ, Lu C *et al.* (2013) Causal relationship between obesity and vitamin D status: bi-directional Mendelian randomization analysis of multiple cohorts. *PLoS Med* 10:e1001383
- Vimalaewaran KS, Cavadino A, Berry DJ *et al.* (2014) Association of vitamin D status with arterial blood pressure and hypertension risk: a mendelian randomisation study. *Lancet Diabetes Endocrinol* 2:719–29
- Wang TJ, Zhang F, Richards JB *et al.* (2010) Common genetic determinants of vitamin D insufficiency: a genome-wide association study. *Lancet* 376:180–8
- Zaslav M (2005) Sunlight, vitamin D, and the innate immune defenses of the human skin. *J Invest Dermatol* 125:xxi–i
- Zgaga L, Theodoratou E, Farrington SM *et al.* (2011) Diet, environmental factors, and lifestyle underlie the high prevalence of vitamin D deficiency in healthy adults in Scotland, and supplementation reduces the proportion that are severely deficient. *J Nutr* 141:1535–42

OPEN

Quick and Easy Screening for Vitamin D Insufficiency in Adults

A Scoring System to Be Implemented in Daily Clinical Practice

Mélanie Deschasaux, MSc, Jean-Claude Souberbielle, MD, PhD, Valentina A. Andreeva, PhD, Angela Sutton, MD, PhD, Nathalie Charnaux, MD, PhD, Emmanuelle Kesse-Guyot, PhD, Paule Latino-Martel, PhD, Nathalie Druesne-Pecollo, PhD, Fabien Szabo de Edelenyi, PhD, Pilar Galan, MD, PhD, Serge Hercberg, MD, PhD, Khaled Ezzedine, MD, PhD, and Mathilde Touvier, PhD

Abstract: Vitamin D is essential regarding several health outcomes. Prevention of insufficiency (25-hydroxyvitamin D concentration ≤ 20 ng/mL) generally entails blood testing and/or supplementation, strategies that should target at-risk individuals because blood testing is costly, and unwarranted supplementation could result in vitamin D overload with unknown long-term consequences.

Our objective was to develop a simple score (Vitamin D Insufficiency Prediction score, VDIP) for identifying adults at risk of vitamin D insufficiency.

Subjects were 1557 non-vitamin D-supplemented middle-aged adults from the SU.VI.MAX cohort. Scoring points corresponded to the rounded odds ratio for each individual-level characteristic associated with vitamin D insufficiency in a multivariable logistic regression model. Receiver operating characteristic curve (area under curve), sensitivity, specificity, and positive and negative predictive values were computed. External validation was performed in an independent cohort (NutriNet-Santé, N = 781).

For female sex, overweight, low physical activity, winter season, moderate sun exposure, and very fair or dark skin 1.5 points were attributed; 2 points for latitude $\geq 48^\circ\text{N}$ and spring season; 2.5 points for

obesity and late winter; 3 points for low sun exposure. Points were then summed up for each participant. The VDIP score had an AUC = 0.70 ± 0.01 (validation: 0.67 ± 0.02). With a score of 7 or more, 70% of the participants were vitamin D-insufficient (80% in those with a score ≥ 9), sensitivity/specificity were 0.67/0.63, and positive and negative predictive values were 0.70/0.59.

The VDIP score performed well in identifying middle-aged adults at risk of vitamin D insufficiency (score ≥ 7 , moderate risk; score ≥ 9 , high risk), using only simple individual-level characteristics easily assessable in day-to-day clinical practice. Implementation of this simple and costless score could thus obviate unwarranted supplementation and/or blood testing.

(*Medicine* 95(7):e2783)

Abbreviations: 25OHD = 25-hydroxyvitamin D, AUC = area under the ROC curve, BMI = body mass index, NPV = negative predictive value, PPV = positive predictive value, ROC = receiver operating characteristic, SNP = single nucleotide polymorphism, SU.VI.MAX = Supplémentation en Vitamines et Minéraux Antioxydants, VDIP = vitamin d insufficiency prediction.

INTRODUCTION

Vitamin D seems to be the subject of remarkable research interest, as shown by the 30,000+ hits on Pubmed regarding publications from the last decade. This prohormone is provided by an endogenous synthesis triggered by UVB exposure and, to a much lesser extent, by a limited number of dietary sources or supplements. Vitamin D is converted first to 25-hydroxyvitamin D (25OHD), its main circulating form, and then to 1,25-dihydroxyvitamin D, its biologically active form.^{1,2} It is particularly known for its involvement in calcium homeostasis and thus its importance for bone health. However, evidence has emerged regarding the role of vitamin D in a myriad of physiological processes unrelated to calcium metabolism, such as immunity, insulin secretion, neurological function, cardiovascular function, and cell regulation. Hence, vitamin D could conceivably play a central role in the prevention of several inflammatory and chronic diseases, underscoring the importance of maintaining an adequate vitamin D status.¹⁻³

Vitamin D insufficiency (blood 25OHD concentration ≤ 20 ng/mL⁴) is common in adults worldwide with a prevalence around 60% in western Europe and 36% in the US.³ In France,⁵ this prevalence was 42.5% in 2006. It is therefore essential to identify individuals at risk in order to provide appropriate treatment options.

Prevention and treatment of vitamin D insufficiency generally involves vitamin D blood testing and/or supplementation.

Editor: Yoram Chaiter.

Received: September 29, 2015; revised and accepted: January 18, 2016. From the Sorbonne Paris Cité Epidemiology and Statistics Research Center (CRESS) (MD, VAA, EK-G, PL-M, ND-P, FSdE, PG, SH, KE, MT), Nutritional Epidemiology Research Team (EREN), Inserm U1153, Inra U1125, Cnam, Paris 13 University, Bobigny; Department of Physiology (J-CS), Necker Hospital, Inserm U845, Paris; Jean Verdier Hospital, Biochemistry Department (AS, NC), Inserm U698, Paris 13 University, Bondy; Public Health Department (SH), Avicenne Hospital, Bobigny; and Dermatology Department (KE), Henri Mondor Hospital, Paris, France.

Correspondence: Mélanie Deschasaux, Sorbonne Paris Cité Epidemiology and Statistics Research Center (CRESS), Nutritional Epidemiology Research Team (EREN), Inserm U1153, Inra U1125, Cnam, Paris 13 University, SMBH Paris 13, 74, rue Marcel Cachin, F-93017, Bobigny Cedex, France, (e-mail: m.deschasaux@eren.smbh.univ-paris13.fr).

KE and MT equally contributed to this work.

This work was supported by a grant from the French Research Institute for Public Health (IRESP N°AAR201206) and Mélanie Deschasaux was funded by a PhD grant from the Cancéropôle Ile-de-France (public funding from the Paris region). The funders had no role in the design, implementation, analysis, or interpretation of the data.

The authors have no conflicts of interest to disclose.

Supplemental Digital Content is available for this article.

Copyright © 2016 Wolters Kluwer Health, Inc. All rights reserved.

This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivatives License 4.0, where it is permissible to download, share and reproduce the work in any medium, provided it is properly cited. The work cannot be changed in any way or used commercially.

ISSN: 0025-7974

DOI: 10.1097/MD.0000000000002783

Existing recommendations have pointed out that both measures should target at-risk individuals.^{6,7} Indeed, vitamin D testing is certainly not cost-efficient in the general population^{6–9} and unwarranted vitamin D supplementation could lead to overload in some individuals who are not vitamin D deficient, which itself has unknown long-term consequences.¹⁰

In a previous study,¹¹ we tested a wide range of socio-demographic, lifestyle, anthropometric, and genetic factors in association with plasma 25OHD concentration and were thus able to identify determinants of vitamin D insufficiency. Such knowledge could serve as a basis for the implementation of strategies to identify individuals at high risk for vitamin D insufficiency.

Here, our objectives were (1) to develop a simple score that could be used in daily clinical practice for the detection of middle-aged adults at risk of vitamin D insufficiency and (2) to validate this score in an unrelated sample of adults.

SUBJECTS AND METHODS

Study Population

For the development of the Vitamin D Insufficiency Prediction (VDIP) score, we used data from the Supplémentation en Vitamines et Minéraux Antioxydants cohort, a population-based, double-blind, placebo-controlled, primary prevention randomized trial (SU.VI.MAX, 1994–2007, www.clinicaltrials.gov, NCT00272428), initially designed to assess the effect of a 7.5-year daily antioxidant supplementation on the incidence of cardiovascular diseases and cancer.¹² The study was approved by the Ethics Committee for Studies with Human Subjects at the Paris-Cochin Hospital (CCPPRB no.1706) and the “Commission Nationale de l’Informatique et des Libertés” (CNIL no.334641). A total of 13,017 participants were enrolled in 1994 to 1995. All of them provided written informed consent. Participants were advised not to take any dietary supplementation during the study period. Next, a nested case-control study was set up to investigate the association between vitamin D status and cancer risk, including all cases of first incident cancer diagnosed between 1994 and 2007. Two cancer-free controls per case were randomly selected and matched on sex, age, intervention group, and season of blood draw. The present analysis is based exclusively on the subsample of controls (n = 1850) from this nested case-control study.

For the validation of the VDIP score, we used data from the NutriNet-Santé cohort (approved: IRB Inserm n°000388FWA00005831 and CNIL n°908450/n°909216), a large, ongoing, Web-based nutrition-and-health-focused cohort launched in France in 2009 and open to volunteers aged 18+ with Internet access.¹³ Electronic informed consent was obtained from each participant (EudraCT no. 2013-000929-31). Of the 158,429 volunteers enrolled to date, 19,600 have provided fasting blood samples. From that pool, a random sample of 860 individuals was selected for plasma 25OHD concentration assessment.

Both studies were conducted according to the Declaration of Helsinki guidelines.

Baseline Data Collection

At enrollment (1994–1995), SU.VI.MAX participants were invited to complete self-administered questionnaires on sociodemographics, health/risk behaviors and lifestyle (smoking, medication use, physical activity, etc.) and health status. Subjects self-evaluated their usual level of physical activity as follows: irregular, < 1 h/d walking equivalent or ≥ 1 h/d walking equivalent. Height and weight were measured during a baseline

clinical examination by study medical staff. A 35 mL venous blood sample was collected at baseline in vacutainer tubes from participants who had been fasting for ≥ 12 h. All blood draws occurred between October and May. Blood samples were centrifuged immediately after blood draw. Plasma aliquots (preserved in sodium heparin) and buffy-coat fractions were stored frozen in liquid nitrogen at the central biobank.

In turn, in order to be included in the NutriNet-Santé study, participants fill an initial set of sociodemographic, lifestyle, health, anthropometrics, and physical activity questionnaires. Height and weight were self-reported, following the standardized measurement guidelines provided to the participants. Usual level of physical activity is assessed via the web version of the “International Physical Activity Questionnaire” (IPAQ)¹⁴ and coded as low, moderate, or high, following the IPAQ guidelines.¹⁵ Among volunteers who had accepted the clinic visit, a 43 mL fasting (≥ 6 h) blood sample was collected using a vacutainer system. Tubes were fractioned in aliquots containing lithium-heparin and were stored at –80°C at the central biobank.

In both the cohorts, the latitude of each administrative center (corresponding to the place of residence) was retrieved. Next, usual sun exposure and Fitzpatrick skin phenotype were obtained through a sun exposure/sun safety questionnaire, which was previously described in details.^{16–19} This questionnaire was specifically developed in the context of the SU.VI-MAX study and was used again in the NutriNet-Santé study. Participants were asked to provide an estimation of their usual sun exposure (high, moderate, low, none) and to describe their skin reaction to a first sun exposure without protection, using Fitzpatrick classification.

Assessment of Plasma 25OHD Concentration and Genotyping

In both the cohorts, concentrations of total 25OHD were measured in baseline plasma samples using the same laboratory. Measurement relied on Roche Cobas electrochemoluminescent immunoassay (Roche Diagnostics, Meylan, France), based on the principle of competitive binding, as previously reported.^{11,20} The intra-assay coefficient of variation was 4.5% and the inter-assay coefficient of variation was 6.6%.

Finally, SU.VI.MAX subjects were genotyped for 2 single nucleotide polymorphisms (SNPs) of the *GC* gene (rs4588 and rs7041, both coding for the vitamin D-binding protein) which have been associated with vitamin D status in previous studies, including in the SU.VI.MAX cohort.¹¹ As previously reported in details,¹¹ genetic polymorphisms were assessed by allelic discrimination using fluorogenic probes and the 5' nuclease (TaqMan) assay (Applied Biosystems, Foster City, CA).

Statistical Analysis

From the 1850 SU.VI.MAX participants with available plasma vitamin D concentration data, the following exclusions were made prior to analysis: taking medication containing vitamin D (n = 12), presence of epilepsy or renal failure (n = 5) and age < 45 years (n = 275), leaving 1557 participants for analyses (see the flow chart in Supplemental Digital Content 1, <http://links.lww.com/MD/A691>). Participants aged < 45 years were excluded because of the differential age at inclusion between men (45 years) and women (35 years) in the initial SU.VI.MAX trial.

For the development of the VDIP score, a multivariable unconditional logistic regression model was fit using the SU.VI.MAX data to model the risk of vitamin D insufficiency

TABLE 1. Associations between Vitamin D Insufficiency and Individual Factors, from Unconditional Logistic Regression Models*, SU.VI.MAX cohort, France, and NutriNet-Santé cohort, France

	SU.VI.MAX N = 1557				NutriNet-Santé N = 781			
	≤20 vs >20 ng/mL [†]				≤20 vs >20 ng/mL [†]			
	n	OR	95% CI	P	n	OR	95% CI	P
Sex				<0.0001 [‡]				0.4 [‡]
Male	833	1			337	1		
Female	724	1.81	1.43, 2.29		444	0.88	0.62, 1.24	
BMI, kg/m ²				0.007 [‡]				0.0009 [‡]
<18.5	27	1.86	0.77, 4.48		24	0.27	0.08, 0.96	
≥18.5–<25	889	1			529	1		
≥25–<30	537	1.34	1.04, 1.71		182	1.58	1.07, 2.32	
≥30	104	1.99	1.23, 3.22		46	2.72	1.37, 5.39	
Physical activity				<0.0001				0.3 [‡]
Irregular-Low	364	1.74	1.31, 2.32		170	1.33	0.86, 2.06	
<1h/d walking equivalent-Moderate	438	1.43	1.10, 1.85		291	1.08	0.74, 1.58	
≥1h/d walking equivalent-High	755	1			182	1		
Missing	/	/			46	0.76	0.42, 1.36	
Latitude [§]				<0.0001				0.0001
Quartile 1	394	1			218	1		
Quartile 2	416	1.07	0.78, 1.48		190	1.16	0.75, 1.82	
Quartile 3	355	1.79	1.29, 2.48		171	1.41	0.86, 2.29	
Quartile 4	392	2.00	1.45, 2.77		202	2.44	1.57, 3.82	
Month of blood draw				<0.0001 [‡]				0.001 [‡]
October–November	265	1			129	1		
December–January	520	1.56	1.11, 2.18		217	1.91	1.10, 3.34	
February–March	604	2.68	1.96, 3.69		341	2.91	1.70, 4.99	
April–May	168	2.21	1.42, 3.46		94	2.03	1.04, 3.98	
Usual sun exposure				<0.0001				0.06 [‡]
None-Low	458	3.01	2.02, 4.50		83	2.21	0.98, 4.98	
Moderate	931	1.51	1.06, 2.16		380	1.45	0.73, 2.88	
High	168	1			54	1		
Missing	/	/			264	1.04	0.50, 2.17	
Fitzpatrick phototype				0.06				0.003 [‡]
I	62	1.41	0.74, 2.67		34	1.11	0.48, 2.58	
II	335	1.39	0.97, 1.97		166	1.70	1.03, 2.80	
III	877	1.21	0.91, 1.62		286	1.12	0.71, 1.76	
IV	283	1			149	1		
V	/	/			38	5.40	2.32, 12.6	
VI	/	/			25	1.24	0.49, 3.17	
Missing	/	/			83	1.56	0.80, 3.03	

BMI = body mass index.

*Multivariable unconditional logistic regression models were adjusted for age (<40 y/40–44y/45–49 y/50–54 y/55–65 y) and included all the individual factors presented in the table (sex, body mass index, physical activity, latitude, month of blood draw, usual sun exposure, and Fitzpatrick phototype).

[†]Number of subjects with 25OHD concentration ≤20 ng/mL/>20 ng/mL in SU.VI.MAX: 888/669 and in NutriNet-Santé: 319/462.

[‡]P nontrend.

[§]Cut offs for quartiles of latitude were 45.34/48/48.48 in SU.VI.MAX and 43.37/45.46/48.52 in NutriNet-Santé.

^{||}I: always burns easily, never tans; II: burns easily, tans minimally; III: burns moderately, tans gradually; IV: burns minimally, tans well; V: burns rarely, tans profusely; VI: never burns, deep pigmentation.

(plasma concentration ≤20 ng/mL). The model was age-adjusted and included sex, body mass index, physical activity, residential latitude, month of blood draw, self-estimated usual sun exposure, and Fitzpatrick skin phototype. To build the VDIP score, points were assigned to each characteristic associated with vitamin D insufficiency using the odds ratio (OR) value rounded to the closest 0.5 to facilitate computation. Attributed points were then summed up for each participant.

A higher score thus reflected higher risk of vitamin D insufficiency. Sensitivity analyses were performed following the introduction of dietary intakes of vitamin D, and of the 2 SNPs of the GC gene in the scoring system, and following the exclusion of participants diagnosed with a cardiovascular disease or diabetes at baseline.

To perform an external validation of the obtained score, an independent sub-sample of the NutriNet-Santé study was

selected as follows: from the 860 participants with available plasma vitamin D concentration, participants were excluded for taking vitamin D supplementation ($n = 79$), thus leaving data from 781 participants available for analyses (see the flow chart in Supplemental Digital Content 1). The same multivariable unconditional logistic regression model was fit in that sample.

If <5% of data were missing, they were replaced by the mode value of the respective variable. If >5% of data were missing, a “missing category” was introduced into the model.

In both samples, receiver operating characteristic (ROC) curves were drawn (sensitivity vs 1-specificity) from a logistic regression model of vitamin D insufficiency, with the VDIP score modeled as the explanatory variable. Sensitivity, specificity, and positive and negative predictive values (PPV and NPV) were calculated for each value of the score and the area under the ROC curve (AUC) was assessed. The AUC represents the ability of the test to measure reality, an ideal test having an AUC of 1. In our study, the AUC shows the ability of the score to accurately identify people with actual vitamin D insufficiency.

SAS software version 9.3 was used for the analyses (SAS Institute, Cary, NC). All statistical tests were 2-sided and $P < 0.05$ was considered significant.

RESULTS

Mean 25OHD concentrations were 20.2 ± 10.4 ng/mL in our SU.VI.MAX analysis sample ($N = 1557$), and 24.1 ± 11.7 ng/mL in our NutriNet-Santé validation sample ($N = 781$). More than half (57.0%) of the SU.VI.MAX sample had 25OHD concentration ≤ 20 ng/mL (40.8% in the NutriNet-Santé validation sample).

A description of the 2 study populations and results of the logistic regression models are presented in Table 1. As expected,¹¹ vitamin D insufficiency in the SU.VI.MAX cohort (median age at baseline = 53 years) was associated with female sex, being overweight or obese, practicing physical activity irregularly or ≤ 1 h/d walking equivalent, living at Northern latitudes, blood draw occurring in winter/early spring, having low or moderate usual sun exposure, and having a very fair skin (Fitzpatrick phototype I or II). In NutriNet-Santé (median age at baseline = 47 years), the same characteristics were associated with vitamin D insufficiency (also including the darkest Fitzpatrick phototypes), except for physical activity and sex. These results were similar when excluding subjects with missing data ($N = 470$).

Next, a scoring system was developed from the logistic regression results obtained in the SU.VI.MAX sample (Table 2). Points were attributed to the characteristics associated with vitamin D insufficiency (ORs rounded to the closest 0.5, except for obesity, for which an additional 0.5 was assigned, given that obesity is recognized as a major determinant of vitamin D insufficiency).²¹ As noted above, Fitzpatrick phototypes V and VI (dark skin color) were not represented in the SU.VI.MAX population. Hence, we extrapolated the points given to the 2 fairest phototypes (Fitzpatrick types I and II) to the 2 darkest phototypes (Fitzpatrick types V and VI) for validation purposes in the NutriNet-Santé sample, in which these phototypes were represented. In Supplemental Digital Content 2, <http://links.lww.com/MD/A691>, we present a simple checklist that could be completed in 5 minutes and can be used in day-to-day practice to gather personal information needed for computing the VDIP score.

In turn, Table 3 provides the distribution of the VDIP score in the SU.VI.MAX sample with the corresponding sensitivity,

TABLE 2. Score Loading: Attribution of Points for Each Selected Individual Characteristic*

Characteristics	Points
Sex	
Male	0
Female	1.5
Weight status; BMI, kg/m ²	
<25	0
between 25 and 30	1.5
≥ 30	2.5
Physical activity	
Irregular	1.5
< 1h/d walking equivalent	1.5
≥ 1 h/d walking equivalent	0
Residential latitude	
<48°N (in France: South of a line from mid-Brittany to mid-Alsace)	0
$\geq 48^\circ$ N (in France: North of a line from mid-Brittany to mid-Alsace)	2
Season	
June–November	0
December–January	1.5
February–March	2.5
April–May	2
Usual sun exposure	
Low/very low	3
Moderate	1.5
High	0
Fitzpatrick phototype	
I: always burns easily, never tans	1.5
II: burns easily, tans minimally	1.5
III: burns moderately, tans gradually	0
IV: burns minimally, tans well	0
V: burns rarely, tans profusely [†]	1.5
VI: never burns, deep pigmentation [†]	1.5
Total [‡]	

BMI = body mass index.

* The individual characteristics with points >0 were the ones for which an increased risk of vitamin D insufficiency was observed in the SU.VI.MAX logistic regression model (Table 1). Points were attributed according to the OR value in the SU.VI.MAX logistic regression model (Table 1) rounded to the closest 0.5 to facilitate score computation. An additional 0.5 was given for the “obese” characteristic because obesity is a major determinant of vitamin D status.

[†] Fitzpatrick phototypes V and VI were not represented in the SU.VI.MAX population. We extrapolated the points given to the 2 fairest phototypes (I, II) to the 2 darkest (V, VI) for validation in the NutriNet-Santé cohort in which these phototypes were represented.

[‡] Final score is comprised between 0 and 14.5.

specificity, PPV, and NPV. The median score was 7.0 (min: 0, Q1: 5.5, Q3: 9.0, max: 14.0). A score ≥ 7 was observed in 54.3% of the sample, with the following properties: sensitivity = 0.67, specificity = 0.63, PPV = 0.70, and NPV = 0.59. In total, for 8.9% of the participants with a score ≥ 7 , 25OHD concentration was >30 ng/mL, and it was >40 ng/mL for 1.8%. Among those with a score ≥ 9 , the corresponding proportions were 4.3% and 1.0%. The ROC curve associated with the score is presented in Figure 1a. The AUC was 0.70 ± 0.01 . Similar results were observed after the exclusion of participants who declared a

TABLE 3. Sensitivity and Specificity for the Detection of Vitamin D Insufficiency (25OHD ≤ 20 ng/mL) for Each Value of the Score, N = 1557, SU.VI.MAX cohort, France

Score	N	%	Sensitivity	Specificity	True positives	False positives	PPV*	NPV†
≥14	1	0.06	0.00	1.00	0	1	/	0.43
≥13.5	7	0.4	0.01	1.00	5	2	0.71	0.43
≥13	13	0.8	0.01	1.00	10	3	0.77	0.43
≥12.5	24	1.6	0.02	0.99	19	5	0.79	0.43
≥12	57	3.7	0.06	0.99	49	8	0.86	0.44
≥11.5	79	5.1	0.08	0.99	69	10	0.87	0.45
≥11	111	7.1	0.10	0.97	93	18	0.84	0.45
≥10.5	181	11.6	0.17	0.95	148	33	0.82	0.46
≥10	237	15.2	0.22	0.94	195	42	0.82	0.48
≥9.5	290	18.6	0.27	0.92	236	54	0.81	0.49
≥9	396	25.4	0.36	0.88	316	80	0.80	0.51
≥8.5	492	31.6	0.43	0.84	385	107	0.78	0.53
≥8	569	36.6	0.49	0.80	433	136	0.76	0.54
≥7.5	725	46.6	0.59	0.69	520	205	0.72	0.56
≥7	845	54.3	0.67	0.63	595	250	0.70	0.59
≥6.5	926	59.5	0.72	0.57	635	291	0.69	0.60
≥6	1086	69.8	0.81	0.45	719	367	0.66	0.64
≥5.5	1178	75.7	0.86	0.38	765	413	0.65	0.68
≥5	1226	78.8	0.89	0.34	787	439	0.64	0.69
≥4.5	1360	87.4	0.94	0.22	835	525	0.61	0.73
≥4	1387	89.1	0.95	0.19	845	542	0.61	0.75
≥3.5	1410	90.6	0.96	0.17	854	556	0.61	0.77
≥3	1514	97.3	0.99	0.05	880	634	0.58	0.81
≥2.5	1520	97.7	0.99	0.04	880	640	0.58	0.78
≥2	1522	97.8	0.99	0.04	881	641	0.58	0.80
≥1.5	1555	99.9	1.00	0.00	888	667	0.57	1.00
≥0	1557	100	1.00	0.00	888	669	0.57	/

PPV = positive predictive value, NPV = negative predictive value.

* Positive predictive value = $\frac{\text{True positives (individuals with a score } \geq \text{cut off and 25OHD} < 20 \text{ ng/mL)}}{\text{Total positives (individuals with a score } \geq \text{cut off)}}$, which corresponds to the proportion of participants with actual vitamin D insufficiency among individuals with a score above the chosen cut off.

† Negative predictive value = $\frac{\text{True negatives (individuals with a score} < \text{cut off and 25OHD} > 20 \text{ ng/mL)}}{\text{Total negatives (individuals with a score} < \text{cut off)}}$, which corresponds to the proportion of participants without vitamin D insufficiency among individuals with a score below the chosen cut off.

cardiovascular disease or diabetes at baseline (N=1476, AUC=0.70±0.01). Likewise, similar AUC were observed with a modified VDIP score that included the SNPs GC rs4588 (0 point for the genotype GG, 1.5 for GT and 2 for TT) and rs7041 (0 point for the genotype CC, 1.5 for AC and AA) (AUC=0.71±0.01) or with a modified VDIP score that included dietary intake of vitamin D (0 point for quartiles 3 and 4, 1.5 for quartiles 1 and 2) (AUC=0.70±0.01) [data not tabulated].

In the NutriNet-Santé validation sample (Table 4), the median VDIP score was 6.0 (min: 0, Q1: 4.5, Q3: 8.0, max: 14.5). A score ≥7 was observed in 45.2% of the sample, with the following properties: sensitivity=0.61, specificity=0.66, PPV=0.55, and NPV=0.71. In total, for 19.3% of subjects with a score ≥7, 25OHD concentration was >30 ng/mL, and it was >40 ng/mL for 7.6%. Among those with a VDIP score ≥9, the corresponding proportions were 17.9% and 6.4%. The ROC curve associated with the score is presented in Figure 1b. The AUC was 0.67±0.02.

DISCUSSION

In this study, a simple scoring system based on easy-to-assess individual characteristics was developed in a population

of nonsupplemented middle-aged French adults to predict vitamin D insufficiency. The VDIP score computation uses information on individual characteristics associated with vitamin D status (sex, BMI, physical activity, residential latitude, season, usual sun exposure, and Fitzpatrick skin phototype) that could feasibly be gathered in clinical practice using a 5-minute checklist (Supplemental Digital Content 2). The VDIP score performed well, with an AUC of 0.70±0.01 (0.67±0.02 in the validation sample). It thus constitutes a useful tool to be integrated in clinical practice to obviate unnecessary supplementation and blood testing.

As indicated by the PPV, 70% of the participants with a score ≥7 were vitamin D-insufficient (80% in those with a score ≥9). Any patient with a VDIP score ≥7 to <9 could be regarded as moderately at risk of vitamin D insufficiency and any patient with a score ≥9 could be regarded as being at high risk.

In practice, if a patient has a VDIP score higher than a selected cut off, a vitamin D supplementation could be recommended. The choice of the cut off depends on the context and on the clinical and/or public health objectives, and should undergo a validation in clinical laboratories. This is why all characteristics (sensitivity, specificity, PPV, and NPV) for all cut offs are provided in Tables 3 and 4. A cut-off score of 7 represents a balance between relatively high sensitivity and high specificity.

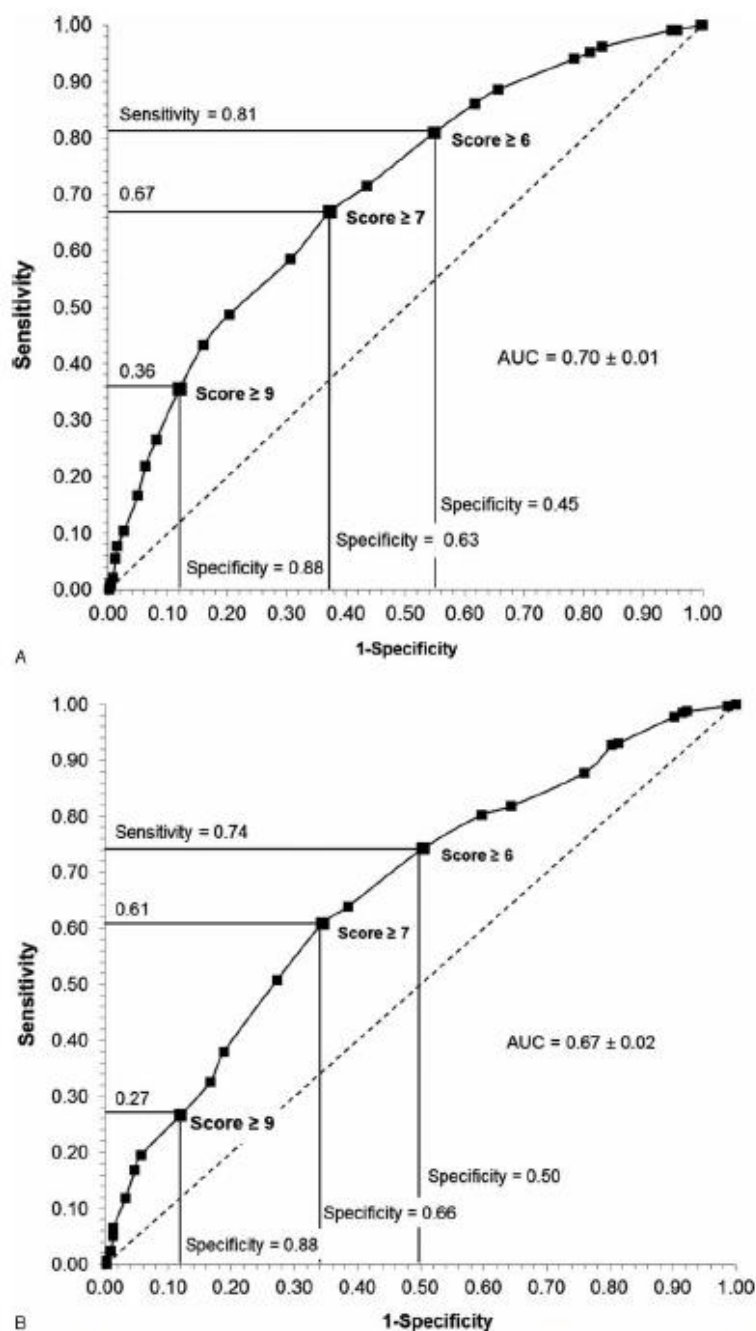


FIGURE 1. ROC curves for the VDIP score in the detection of vitamin D insufficiency (25-hydroxyvitamin D ≤ 20 ng/mL), (A) SU.VI.MAX cohort (N = 1557), (B) NutriNet-Santé cohort (N = 781), France. The ROC curve of the VDIP score (solid line) draws the sensitivity vs 1 minus the specificity. For each value of the VDIP score, the sensitivity is the probability to accurately classify a person with vitamin D insufficiency (true positive) and the specificity is the probability to accurately classify a person who does not have a vitamin D insufficiency (true negative). Conversely, 1 minus the specificity is the probability for a person to be classified as "vitamin D insufficient" while this person does not have vitamin D insufficiency (false positive). For instance, in (A), a VDIP score ≥ 7 corresponded to a sensitivity = 0.67, and a specificity = 0.63. The first bisector (dotted line) represents the ROC curve of a test that would be no better than random. The more a ROC curve is away from the first bisector toward the upper left corner, the better the screening ability of the test is. The AUC represents the ability of the score to accurately identify people with actual vitamin D insufficiency. AUC = area under curve, ROC = receiver operating characteristic, VDIP = Vitamin D Insufficiency Prediction score.

TABLE 4. Sensitivity and Specificity for the Detection of Vitamin D Insufficiency (25OHD ≤ 20 ng/mL) for Each Value of the Score, N = 781, NutriNet-Santé cohort, France

Score	N	%	Sensitivity	Specificity	True positives	False positives	PPV*	NPV†
≤ 14.5	1	0.1	0.00	1.00	0	1	0.00	0.59
≥ 13	2	0.3	0.00	1.00	1	1	0.50	0.59
≥ 12.5	3	0.4	0.01	1.00	2	1	0.67	0.59
≥ 12	12	1.5	0.03	0.99	8	4	0.67	0.60
≥ 11.5	22	2.8	0.05	0.99	16	6	0.73	0.60
≥ 11	27	3.5	0.07	0.99	21	6	0.78	0.60
≥ 10.5	53	6.8	0.12	0.97	38	15	0.72	0.61
≥ 10	76	9.7	0.17	0.95	54	22	0.71	0.62
≥ 9.5	88	11.3	0.19	0.94	62	26	0.70	0.63
≥ 9	140	17.9	0.27	0.88	85	55	0.61	0.63
≥ 8.5	181	23.2	0.33	0.83	104	77	0.57	0.64
≥ 8	208	26.6	0.38	0.81	121	87	0.58	0.65
≥ 7.5	288	36.9	0.51	0.73	162	126	0.56	0.68
≥ 7	353	45.2	0.61	0.66	194	159	0.55	0.71
≥ 6.5	382	48.9	0.64	0.61	204	178	0.53	0.71
≥ 6	470	60.2	0.74	0.50	237	233	0.50	0.74
≥ 5.5	532	68.1	0.80	0.40	256	276	0.48	0.75
≥ 5	558	71.5	0.82	0.36	261	297	0.47	0.74
≥ 4.5	631	80.8	0.88	0.24	280	351	0.44	0.74
≥ 4	667	85.4	0.93	0.20	296	371	0.44	0.80
≥ 3.5	673	86.2	0.93	0.19	297	376	0.44	0.80
≥ 3	729	93.3	0.98	0.10	312	417	0.43	0.87
≥ 2.5	737	94.4	0.98	0.08	314	423	0.43	0.89
≥ 2	741	94.9	0.99	0.08	315	426	0.43	0.90
≥ 1.5	774	99.1	1.00	0.01	318	456	0.41	0.86
≥ 0	781	100	1.00	0.00	319	462	0.41	/

PPV = positive predictive value, NPV = negative predictive value.

* Positive predictive value = $\frac{\text{True positives (individuals with a score} \geq \text{cut off and 25OHD} < 20 \text{ ng/mL)}}{\text{Total positives (individuals with a score} \geq \text{cut off)}}$, which corresponds to the proportion of participants with actual vitamin D insufficiency among individuals with a score above the chosen cut off.

† Negative predictive value = $\frac{\text{True negatives (individuals with a score} < \text{cut off and 25OHD} > 20 \text{ ng/mL)}}{\text{Total negatives (individuals with a score} < \text{cut off)}}$, which corresponds to the proportion of participants without vitamin D insufficiency among individuals with a score below the chosen cut off.

If the objective is to detect a maximum of patients with vitamin D insufficiency (increased sensitivity), then lower cut-off scores such as 5.5 or 6 could be selected. However, this strategy would also lead to a higher proportion of people wrongly classified as vitamin D insufficient (false positives) because of a decreased specificity. In contrast, if the objective is to minimize the proportion of wrongly classified people (increased specificity), then higher cut-off scores, such as 9, could be selected. However, this strategy would also lead to a decreased sensitivity and thus a decreased number of detected people.

Among those who would be identified as vitamin D-insufficient based on the score, a small yet nonnegligible proportion (especially in the validation sample) had a 25OHD concentration >40 ng/mL. Cautious dosing of vitamin D supplements may thus be advised, in line with the recommendations made by the Institute of Medicine.^{4,10}

Admittedly, a few studies have already advanced scoring guidelines to predict vitamin D status, either in order to identify a proxy for blood 25OHD concentration in large cohorts,²² or with the objective to detect at-risk individuals in clinical practice.^{23–27} However, most of these investigations were either based on relatively restricted samples,^{24,26,27} or were focused on specific population subgroups,²⁴ or included a very limited number of individual characteristics,^{23,27} or included characteristics that are practically impossible to assess in a quick and

easy fashion (as dietary vitamin D intake and precise UV exposure),^{22,26} or provided complex, hard-to-interpret coefficients,²² or did not perform external validation in an independent sample.^{23,24,26,27} Sohl et al²⁵ were the first who successfully developed models to predict vitamin D deficiency in the general elderly European population. This study focused on older subjects (mean age = 76 years) and thus included frailty indicators associated with cognitive and physical decline in the elderly. In contrast, our VDIP score is designed to be implemented in a non-vitamin D-supplemented noninstitutionalized middle-aged adult population.

These scores had similar discrimination performances when predicting vitamin D insufficiency (25OHD ≤ 20 ng/mL) compared to ours: Nabak et al²⁴ observed a sensitivity/specificity of 89%/35% at their chosen cut off; Lopes et al²³ observed an AUC of 0.68; Tran et al²⁶ observed an AUC of 0.73; Bolek-Berquist et al²⁷ observed a sensitivity/specificity of 79%/78% at their chosen cut off (detection of people with 25OHD < 16 ng/mL); and Sohl et al²⁵ observed an AUC of 0.78 (0.71 in the external validation).

Our analyses showed that inclusion of characteristics that would require a time-consuming, costly and/or invasive assessment, such as dietary vitamin D intake or GC rs4588 and rs7041 SNPs, did not improve substantially the discriminatory performance of the score.

Our study had several strengths such as a large sample size and an independent cohort available for validation purposes. The score we developed accounts for a relatively small number of individual-level parameters that could be easily assessed and computed with a simple checklist. This scoring system is therefore a noninvasive method for a quick and efficient assessment of the likelihood of vitamin D insufficiency.

However, some limitations should be acknowledged. First, in both the cohorts, subjects were volunteers participating in long-term studies on nutrition and health and thus may not be representative of the French population. Also, the large majority of the participants were non-Hispanic whites. In SU.VI.MAX, people < 45 years or those with darker skin tones were not represented, even though these categories were included in the NutriNet-Santé cohort. Next, we did not have information on individual clothing habits. Overall, the use of the VDIP score in other Western nonsupplemented population requires caution given that the modeled latitudes are in a relatively narrow range, and also that dietary vitamin D intake in France is rather limited and thus, is not a major determinant of vitamin D status.¹¹ This may be different in other countries with higher dietary vitamin D intake. Second, our score was built in a non-vitamin D-supplemented population. Indeed, spontaneous dietary supplement use was not allowed in the SU.VI.MAX trial and we excluded participants who declared taking drugs containing vitamin D in our analyses. In the NutriNet-Santé sample, we excluded participants using vitamin D supplements or drugs. Supplementation is supposed to have a great influence on vitamin D status. However, the primary goal of our study was to provide a tool to detect vitamin D insufficiency prior to medical decision (ie, prior to supplementation). Third, in the NutriNet-Santé study, there were some missing data on covariates, especially for sun exposure, Fitzpatrick phototype, and physical activity. A missing class was entered into the logistic regression model and individuals were kept in the sample for score computation, with no point attributed for the missing characteristics. This may have induced some misclassification and thus decreased the performance of the score. Exclusion of participants with missing data provided similar results but induced loss of statistical power in the analyses. In addition, weight and height were self-reported in the NutriNet-Santé cohort, thus classification bias could not be excluded. However, in a previous validation study, we showed that self-reported weight and height data from the NutriNet-Santé study were valid and strongly correlated with anthropometric data measured by study staff.²⁸ Fourth, although main analyses excluded participants with epilepsy and renal failure at baseline and sensitivity analyses excluded participants with cardiovascular diseases or diabetes at baseline, analyses that excluded participants with other autoimmune diseases at baseline could not be performed since this information was not validated in the present study. Finally, vitamin D status also is likely determined by other complex biological parameters beyond the simple individual characteristics included in the VDIP score, which could explain the remaining variability.

The simple VDIP score, developed and externally validated in this study, performed well in identifying middle-aged nonsupplemented adults at risk of vitamin D insufficiency who might benefit from vitamin D supplementation. The score was designed to be used in daily clinical practice, given that it is based on a quick and simple checklist that could be administered in physician waiting rooms. Computation of the VDIP score is easy and costless, yet its potential as a primary screening tool for vitamin D insufficiency should not be

underestimated. This score could help to better target at-risk individuals and thus to avoid unnecessary systematic supplementation or blood testing.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors thank Younes Esseddik, Paul Flanzy, Mohand Ait Oufella, Yasmina Chelghoum, and Than Duong Van (computer scientists), Florence Charpentier (dietitian), Nathalie Arnault, Véronique Gourlet, Fabien Szabo, Laurent Bourhis, and Stephen Besseau (statisticians), and Rachida Mehroug (logistics assistant) for their technical contribution to the SU.VI.MAX study and also thank Emmanuelle Mauger for her contribution to the data management and computation of the sun exposure questionnaire.

REFERENCES

1. Norman AW. From vitamin D to hormone D: fundamentals of the vitamin D endocrine system essential for good health. *Am J Clin Nutr.* 2008;88:491S-499S.
2. Holick MF. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med.* 2007;357:266-281.
3. Hossein-Nezhad A, Holick MF. Vitamin D for health: a global perspective. *Mayo Clin Proc.* 2013;88:720-755.
4. Institute of Medicine. Dietary Reference Intakes for Calcium and Vitamin D. Washington, DC: The National Academies Press; 2011.
5. Vernay M, Sponga M, Salavane B, et al. Statut en vitamine D de la population adulte en France: l'Etude nationale nutrition santé (ENNS 2006-2007). [Vitamin D status in the French adult population: the French Nutrition and Health Survey (ENNS, 2006-2007)]. *BEH.* 2012;16-17:189-194.
6. Canadian Agency for Drugs and Technologies in Health (CADTH). Vitamin D testing in the general population: a review of the clinical and cost-effectiveness and guidelines. 16-1-2015. Canada.
7. National Institute for Health and Care Excellence (NICE). Vitamin D: increasing supplement use among at-risk group. 2014. United Kingdom.
8. LeFevre ML. U.S. Preventive Services Task Force. Screening for Vitamin D Deficiency in Adults: U.S. Preventive Services Task Force Recommendation Statement. *Ann Intern Med.* 2015;162:133-140.
9. Vanchithan V, Lim HW. A dermatologist's perspective on vitamin D. *Mayo Clin Proc.* 2012;87:372-380.
10. Ross AC, Manson JE, Abrams SA, et al. The 2011 Dietary Reference Intakes for Calcium and Vitamin D: what dietetics practitioners need to know. *J Am Diet Assoc.* 2011;111:524-527.
11. Touvier M, Deschasaux M, Montourcy M, et al. Determinants of vitamin D status in caucasian adults: influence of sun exposure, dietary intake, socio-demographic, lifestyle, anthropometric and genetic factors. *J Invest Dermatol.* 2015;135:378-388.
12. Hereberg S, Preziosi P, Briancon S, et al. A primary prevention trial using nutritional doses of antioxidant vitamins and minerals in cardiovascular diseases and cancers in a general population: the SU.VI.MAX study—design, methods, and participant characteristics. Supplementation en Vitamines et Minéraux Antioxydants. *Control Clin Trials.* 1998;19:336-351.
13. Hereberg S, Castetbon K, Czernichow S, et al. The NutriNet-Santé Study: a web-based prospective study on the relationship between nutrition and health and determinants of dietary patterns and nutritional status. *BMC Public Health.* 2010;10:242.
14. Craig CL, Marshall AL, Sjostrom M, et al. International physical activity questionnaire: 12-country reliability and validity. *Med Sci Sports Exerc.* 2003;35:1381-1395.

15. IPAQ Group. Guidelines for Data Processing and Analysis of the International Physical Activity Questionnaire (IPAQ). 2005.
16. Ezzedine K, Mauger E, Latreille J, et al. Freckles and solar lentigines have different risk factors in Caucasian women. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2013;27:e345–e356.
17. Elfakir A, Ezzedine K, Latreille J, et al. Functional MC1R-gene variants are associated with increased risk for severe photoaging of facial skin. *J Invest Dermatol*. 2010;130:1107–1115.
18. Ezzedine K, Malvy D, Mauger E, et al. Artificial and natural ultraviolet radiation exposure: beliefs and behaviour of 7200 French adults. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2008;22:186–194.
19. Guinot C, Malvy D, Latreille J et al. Sun exposure behaviour of a general adult population in France. In: Menduzzi editore, ed. Skin and Environment - Perception and Protection (Ring J, Weidinger S, Darsow U), 10th EADV Congress, Munich. Bologna: 2001; 1099-1106.
20. Touvier M, Deschasaux M, Montourcy M, et al. Interpretation of plasma PTH concentrations according to 25OHD status, gender, age, weight status, and calcium intake: importance of the reference values. *J Clin Endocrinol Metab*. 2014;99:1196–1203.
21. Vanlint S. Vitamin D and obesity. *Nutrients*. 2013;5:949–956.
22. Bertrand KA, Giovannucci E, Liu Y, et al. Determinants of plasma 25-hydroxyvitamin D and development of prediction models in three US cohorts. *Br J Nutr*. 2012;108:1889–1896.
23. Lopes JB, Fernandes GH, Takayama L, et al. A predictive model of vitamin D insufficiency in older community people: from the Sao Paulo Aging & Health Study (SPAHS). *Maturitas*. 2014;78:335–340.
24. Nabak AC, Johnson RE, Keuler NS, et al. Can a questionnaire predict vitamin D status in postmenopausal women? *Public Health Nutr*. 2014;17:739–746.
25. Sohl E, Heymans MW, de Jongh RT, et al. Prediction of vitamin D deficiency by simple patient characteristics. *Am J Clin Nutr*. 2014;99:1089–1095.
26. Tran B, Armstrong BK, McGeechan K, et al. Predicting vitamin D deficiency in older Australian adults. *Clin Endocrinol*. 2013;79: 631–640.
27. Bolek-Berquist J, Elliott ME, Gangnon RE, et al. Use of a questionnaire to assess vitamin D status in young adults. *Public Health Nutr*. 2009;12:236–243.
28. Lassale C, Peneau S, Touvier M, et al. Validity of web-based self-reported weight and height: results of the Nutrinet-Sante study. *J Med Internet Res*. 2013;15:e152.

Interpretation of Plasma PTH Concentrations According to 25OHD Status, Gender, Age, Weight Status, and Calcium Intake: Importance of the Reference Values

Mathilde Touvier, Mélanie Deschasaux, Marion Montourcy, Angela Sutton, Nathalie Charnaux, Emmanuelle Kesse-Guyot, Léopold K. Fezeu, Paule Latino-Martel, Nathalie Druésne-Pecollo, Denis Malvy, Pilar Galan, Serge Herberg, Khaled Ezzedine, and Jean-Claude Souberbielle

Sorbonne Paris Cité Research Center (M.T., M.D., M.M., E.K.-G., L.K.F., P.L.-M., N.D.-P., P.G., S.H., K.E.), Nutritional Epidemiology Research Team, INSERM Unité 557, Institut National de la Recherche Agronomique Unité 1125, Conservatoire National des Arts et Métiers, and INSERM Unité 698 (A.S., N.C.), Paris 13 University, F-93017 Bobigny, France; Department Biochemistry (A.S., N.C.), Jean Verdier Hospital, F-93143 Bondy, France; Department of Dermatology (D.M., K.E.), St André Hospital, F-33000 Bordeaux, France; Department of Public Health (S.H.), Avicenne Hospital, F-93009 Bobigny, France; and Department of Physiology (J.-C.S.), Necker Hospital (Assistance Publique-Hôpitaux de Paris), and INSERM Unité 845, F-75270 Paris, France

Context: Reference values for plasma PTH assessment were generally established on small samples of apparently healthy subjects, without considering their 25-hydroxyvitamin D (25OHD) status or other potential modifiers of PTH concentration.

Objective: Our objective was to assess ranges of plasma PTH concentration in a large sample of adults, stratifying by 25OHD status, age, gender, weight status, and calcium intake.

Design, Setting, and Participants: This cross-sectional survey is based on 1824 middle-aged Caucasian adults from the Supplémentation en Vitamines et Minéraux Antioxydants study (1994).

Main Outcome Measures: Plasma PTH and 25OHD concentrations were measured by an electrochemoluminescent immunoassay. Extreme percentiles of plasma PTH concentrations were assessed specifically in subjects who had plasmatic values of 25OHD of 20 ng/mL or greater and 30 ng/mL or greater.

Results: Among subjects with 25OHD status of 20 ng/mL or greater, the 97.5th percentile of plasma PTH concentration was 45.5 ng/L. By using this value as a reference, 5% of the subjects with plasma 25OHD less than 20 nmol/L had a high plasma PTH level, reflecting secondary hyperparathyroidism. Among vitamin D-replete subjects (25OHD status of 20 ng/mL or greater), the 97.5th percentile of plasma PTH was higher in overweight/obese subjects (51.9 vs 43.5 ng/L among normal weight subjects).

Conclusions: The reference value for plasma PTH defined in this vitamin D-replete population was far below the value currently provided by the manufacturer (65 ng/L) and varied according to overweight status. These results may contribute to improve the diagnosis of primary and secondary hyperparathyroidism and subsequent therapeutic indication. (*J Clin Endocrinol Metab* 99: 1196–1203, 2014)

Excessive PTH secretion may be due to problems in the parathyroid glands themselves [primary hyperparathyroidism (PHPT), which leads to hypercalcemia] or may also occur in response to a decrease in serum ionized calcium concentration, as encountered in various situations such as vitamin D deficiency [secondary hyperparathyroidism (SHPT)] (1). In most cases, high PTH secretion maintains a normal calcemia but increases the bone turnover and fragility and, at least in the elderly, enhances the risk of osteoporotic fracture, mainly at cortical sites (2). Furthermore, in prospective population-based studies, PTH concentrations in the upper normal range have been associated with an increased incidence of cardiovascular events (3).

Whereas measurement of blood PTH concentration is frequently done in clinical practice, reference values for blood PTH concentration provided by kit manufacturers were generally established on small samples of apparently healthy but poorly described subjects. In addition, although low levels of 25-hydroxyvitamin D (25OHD) are common in normal people (4), vitamin D status had not generally been taken into account in the previously published reference values for the current PTH assays as reviewed elsewhere (5). Nevertheless, it is now well established that PTH and 25OHD concentrations are inversely correlated (6), that PTH increases when 25OHD concentrations are below a certain value (7), and that PTH decreases when vitamin D-insufficient subjects are given vitamin D supplementation. Therefore, PTH reference values should be revised to take into consideration this phenomenon.

We previously proposed to include only vitamin D-sufficient subjects to establish a reference range for serum PTH (8–10). By doing this with different PTH assays, we systematically found that the upper limit of the PTH concentrations measured in vitamin D-replete subjects was lower than the upper normal limit proposed by the manufacturers' kits. The difference between our normal values and those of the manufacturers varied greatly from one kit to another (8).

However, these studies were conducted on relatively small samples. In addition, PTH concentrations have been reported to be influenced by a number of other factors. For example, the aldosterone and the whole renin angiotensin aldosterone system may impact on PTH levels (11). An increase in PTH has also been described in older individuals (12), in blacks compared with whites (13), in obese individuals (14), and in those with low calcium intake (6). However, the establishment of PTH reference ranges did not usually take into account these other factors.

For these reasons, it was concluded in the Third International Workshop on Asymptomatic Primary Hyper-

parathyroidism (15) that further studies were required to establish reference intervals using large population cohorts of vitamin D-replete subjects with an additional stratification by other potential PTH modifiers. Thus, our objective was to assess ranges of plasma PTH concentration (2.5th and 97.5th percentiles) in a large sample of Caucasian adults by stratifying not only by 25OHD status but also by age, gender, overweight status, and calcium intake.

Materials and Methods

Study population

The Supplémentation en Vitamines et Minéraux Antioxydants (SU.VI.MAX) study is a population-based, double-blind, placebo-controlled, randomized trial (clinical trial number NCT00272428) initially designed to assess the effect of a 7.5-year daily antioxidant supplementation on the incidence of cardiovascular disease and cancer (16). Subjects were advised not to take any spontaneous supplementation during the study period. A total of 13 017 subjects were enrolled in 1994–1995. Subjects provided written informed consent, and the study was approved by the Ethical Committee for Studies with Human Subjects at the Paris-Cochin Hospital (Comité Consultatifs de Protection des Personnes se Prêtant à des Recherches Biomédicales number 706) and the Commission Nationale de l'Informatique et des Libertés (number 334641). Potential conflicts of interest have been disclosed to the study participants.

A nested case-control study was set up to investigate the association between 25OHD, PTH, and cancer risk and thus included all first primary incident cancer cases diagnosed between 1994 and 2007 ($n = 928$) and one or two matched controls per case ($n = 1850$). Controls were randomly selected among the participants of identical sex, age, intervention group, and season of blood draw and without cancer diagnosis by the end of follow-up. The present study focuses on the controls of this nested case-control study.

Baseline data collection

At enrollment, all participants had a clinical examination and anthropometric measurements by study nurses and physicians. They completed self-administered questionnaires on sociodemographic data, smoking, physical activity, medication use, and health status. Dietary intake data were collected by repeated 24-hour records (one every 2 months). Mean daily calcium intake was estimated using a published French food composition table (17).

A 35-mL venous blood sample was collected at baseline in vacutainer tubes from participants who had been fasting for 12 hours at the time of the visit. All blood draws occurred between October and April. Blood samples were centrifuged immediately after the blood draw, and plasma aliquots were stored in dry ice less than 1 hour after blood draw for shipment toward the central biobank (maximum 24 h), at which they were stored frozen in liquid nitrogen (-196°C).

Laboratory analyses

Baseline (1994) plasma samples were analyzed in 2012–2013 to determine the concentration of PTH and 25OHD. Plasma PTH concentrations were assessed with the Roche Cobas electrochemoluminescent immunometric assay (Roche Diagnostics), a second-generation PTH assay that uses two anti-PTH antibodies, one directed toward the 26–32 portion of the PTH molecule and another directed toward the 53–84 portion (18). The reference values provided by the manufacturer for this PTH assay are 15–65 ng/L, but no data are provided about the characteristics of the reference population from which these values are derived. We found that the interassay coefficient of variation (CV) was less than 2.9% (three samples of various PTH concentrations tested in 42 separate runs), whereas the intraassay CV was less than 1.4% (the same three samples tested 21 times in the same run).

Plasma 25OHD was measured with the Roche Cobas electrochemoluminescent total 25OHD assay, based on the principle of competitive binding (19). We found that the interassay CV was less than 10% (eight samples of various 25OHD concentrations tested in 42 separate runs), whereas the intraassay CV was less than 6.6% (the same eight samples tested 21 times in the same run).

The Jean Verdier Hospital is member of a program developed by the manufacturer Roche (TIQCon-) and an external quality control of Bio-Rad Laboratories (EQAS). The performance characteristics of the vitamin D assays were as follows: target mean, 34.20 ng/mL; mean, 36.02 ng/mL; confidence interval (CI), 34.27–37.78 ng/mL; SD, 0.59; CV, 1.63%; bias, 5.33%; Z score, 3.45. The performance characteristics of the PTH assays were as follows: target mean, 197.0 pg/mL; mean, 191.5 pg/mL; CI, 167.9–215.1 pg/mL; SD, 7.9; CV, 4.10%; bias, –2.79%; Z score, 0.32.

Statistical analyses

First, the distribution of PTH was computed overall, and in subjects with 25OHD of 20 ng/mL or greater and 30 ng/mL or greater, respectively. Second, the Pearson correlation coefficient between PTH and 25OHD plasma concentrations was calculated. Then the nonlinear association between plasma PTH concentration and 25OHD status was modeled by using the SAS NLIN Procedure. Next, the mean and SD of PTH concentrations were computed by plasma 25OHD status. Lastly, the extreme percentiles (2.5 and 97.5) of plasma PTH concentrations were computed overall and stratified by 25OHD status (≥ 20 ng/mL and ≥ 30 ng/mL), gender, age, overweight status, and calcium intake. Because the distribution of PTH was not considered as being strictly normal according to the Shapiro-Wilk and Kolmogorov-Smirnov tests, the nonparametric method was applied. All analyses were performed with SAS software (version 9.3).

Results

Among the 1850 participants to the SU.VI.MAX cohort eligible for the present study, several were excluded for the following reasons: taking a medication containing vitamin D ($n = 12$), phosphorus ($n = 1$), or loop diuretic ($n = 1$), antecedent of epilepsy ($n = 3$), chronic renal failure ($n = 3$), or celiac disease ($n = 2$) or less than two dietary records

provided within the first 2 years of the study ($n = 4$). Thus, 1824 subjects remained for analyses. Characteristics of this study population are described in Table 1. Participants were Caucasian middle-aged men and women. Mean (\pm SD) plasma PTH concentration was 26.2 ± 9.3 ng/L. As shown in Figure 1, the distribution of PTH was slightly skewed to the right for the whole population but was not in vitamin D-replete subjects. Nine subjects had a PTH value above 65 ng/L (upper normal limit of the kit manufacturer). The proportions of subjects with 25OHD concentrations of 20 ng/mL or less and 30 ng/mL or less were 57.8% and 83.9%, respectively.

Table 2 provides values of PTH concentrations according to the level of plasma 25OHD. The linear Pearson correlation coefficient between PTH and 25OHD plasma concentrations was -0.20 ($P < .0001$). However, the relationship between PTH and 25OHD concentration was nonlinear and modeled by the following equation: $PTH = 23.7 + 13.7 \exp(-0.1 \times 25OHD)$ (Figure 2). This equation suggested a plasma PTH plateau level at 24 ng/L and a 25OHD level in which this plateau was reached corresponding to about 30 ng/mL. When plasma 25OHD values were lower than 30 ng/mL, the plasma PTH values began to increase.

Table 1. Characteristics of the Study Population ($n = 1824$)

	n	%	Mean	SD
Gender				
Men	833	45.7		
Women	991	54.3		
Age, y				
35–45	287	15.7		
45–49	481	26.4		
50–54	463	25.4		
55–65	593	32.5		
Body mass index				
Underweight, < 18.5 kg/m ²	37	2.0		
Normal weight, ≥ 18.5 to < 25 kg/m ²	1100	60.3		
Overweight, ≥ 25 to < 30 kg/m ²	569	31.2		
Obese, ≥ 30 kg/m ²	118	6.5		
Number of dietary records			10.1	3.1
Dietary intake of calcium, mg/d			951	323.8
Month of blood draw				
October–November	303	16.6		
December–January	586	32.1		
February–March	731	40.1		
April–May	204	11.2		
Plasma PTH concentration, ng/L			26.2	9.3
Plasma 25OHD concentration, ng/mL			20.0	10.3

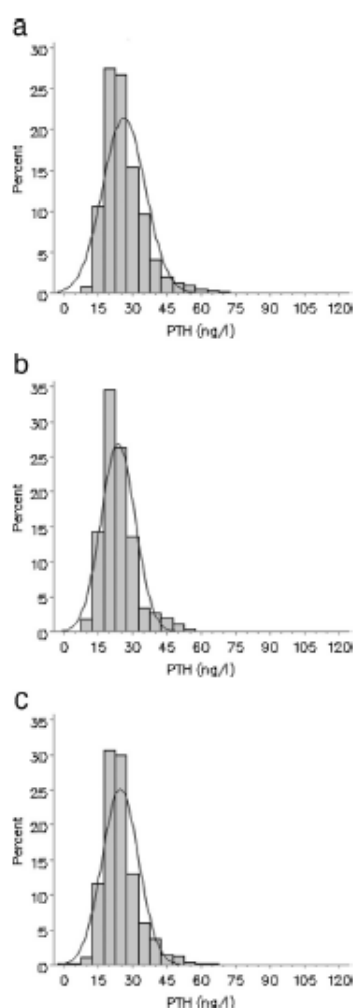


Figure 1. Distribution of plasma PTH concentration in the whole population and in subjects with 25OHD of 20 ng/mL or greater and 30 ng/mL or greater. A, Plasma PTH concentration in whole population (n = 1824). B, Plasma PTH concentration in subjects with 25OHD of 30 ng/mL or greater (n = 293). C, Plasma PTH concentration in subjects with 25OHD of 20 ng/mL or greater (n = 770).

Table 3 provides extreme percentiles (2.5 and 97.5) of plasma PTH concentrations overall and stratified by 25OHD status, gender, age, overweight status, and calcium intake. Among subjects with 25OHD status of 20 ng/mL or greater, the 97.5th percentile of plasma PTH concentration was 45.5 ng/L. The corresponding value was similar (45.3 ng/L) among subjects with 25OHD status of 30 ng/mL or greater. This value was 30% lower than the upper normal value proposed by the kit manufacturer (65 ng/L) and slightly lower than the 50.8 ng/L value of the 97.5th percentile of PTH calculated without stratification by 25OHD status.

By using the value of 45.5 ng/L as the upper limit of the PTH reference range, 4.8% of the subjects with a plasma

Table 2. Mean Plasma PTH Concentrations According to 25OHD Status

25OHD, ng/mL	n	Mean PTH ± SD
<10	270	30.3 ± 11.4
≥ 10 to < 20	783	26.4 ± 9.3
≥ 20 to < 30	478	25.3 ± 8.2
≥ 30 to < 40	209	23.9 ± 7.3
≥ 40	84	23.1 ± 7.8

25OHD concentration of 20 ng/mL or less had a high plasma PTH level, reflecting SHPT. This might be missed if the reference PTH values are those obtained in the entire group, as is usually done.

Among subjects with a 25OHD concentration of 20 ng/mL or greater, the value of the 97.5th percentile of plasma PTH concentration differed by weight status and by calcium intake (Table 3). However, this difference in the value of the 97.5th percentile of PTH according to calcium intake level was no longer observed in subjects with higher vitamin D status (≥30 ng/mL), whereas the difference persisted according to overweight status.

Discussion

In this study conducted on a large population-based sample of French Caucasian adults, we investigated plasma PTH values by stratifying not only by 25OHD status but also by age, gender, weight status, and calcium intake as recommended for the establishment of PTH reference val-

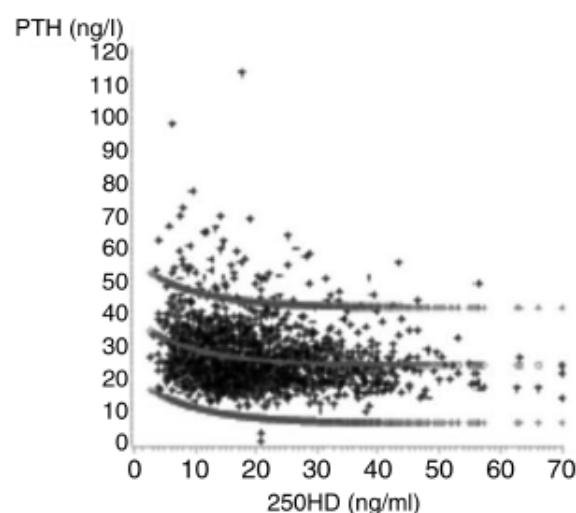


Figure 2. Plasma PTH concentration according to 25OHD status (n = 1824). The relationship between plasma PTH concentration and 25OHD status was modeled by the following equation: $PTH = 23.7 + 13.7 \exp^{-0.1 \times 25OHD}$.

Table 3. Extreme Percentiles of Plasma PTH Concentrations According to 25OHD Status, Gender, Age, Weight Status, and Calcium Intake

	All					Plasma 25OHD ≥ 20 ng/mL					Plasma 25OHD ≥ 30 ng/mL				
	n	Mean of Plasma PTH	SD	Percentiles of Plasma PTH		n	Mean of Plasma PTH	SD	Percentiles of Plasma PTH		n	Mean of Plasma PTH	SD	Percentiles of Plasma PTH	
				2.5	97.5				2.5	97.5				2.5	97.5
All	1824	26.2	9.3	14.3	50.8	771	24.7	7.9	13.5	45.5	293	23.7	7.4	13.3	45.3
Subgroups															
Men	833	27.1	9.6	14.6	53.0	412	25.3	8.0	13.5	49.1	167	24.3	7.3	13.3	45.3
Women	991	25.5	9.0	14.1	48.5	359	23.9	7.9	12.6	44.3	126	22.8	7.5	11.7	46.7
Age 35–45 y	287	25.0	8.9	14.3	50.1	111	23.9	8.6	13.1	50.1	43	24.4	8.3	14.7	49.1
Age 45–49 y	481	26.0	9.9	13.7	50.6	190	24.9	8.3	11.6	45.3	63	24.5	8.2	9.4	45.4
Age 50–54 y	463	26.2	9.0	14.4	49.1	193	23.7	6.8	13.1	44.3	66	21.9	5.7	9.7	38.1
Age 55–65 y	593	27.1	9.2	14.6	53.9	277	25.5	8.1	14.0	50.8	121	24.3	7.4	13.8	45.5
Non-overweight ^a	1137	25.6	9.1	13.9	48.5	510	23.8	7.2	13.3	43.5	199	23.3	7.1	13.3	43.5
Overweight ^a	687	27.9	9.6	15.2	53.9	261	26.4	9.0	13.5	51.9	94	24.5	8.1	11.3	50.8
Calcium intake < 1.2g/d ^b	1467	26.4	9.4	14.5	51.0	619	25.0	8.1	14.4	49.1	235	23.8	7.6	13.5	45.5
Calcium intake ≥ 1.2 g/d ^b	353	25.5	8.7	11.5	48.7	152	23.3	7.1	9.7	39.6	58	23.1	6.6	9.7	49.1

^a Overweight was defined as body mass Index [weight in kilograms/(height in meters)²] ≥ 25 kg/m².

^b Four subjects were excluded because they were taking a medication that contained calcium.

ues by the expert panel who published the last recommendations for the diagnosis of asymptomatic PHPT (15).

The first step in establishing reference values for a given biological marker is to recruit a healthy reference population. Concerning PTH, exclusion criteria can be defined as any situation possibly inducing an increase or a decrease in PTH concentration. Some of these conditions such as the use of a treatment and/or the existence of a symptomatic disease are easily identified at inclusion, but others are mostly asymptomatic and are ignored if not searched. Among these conditions, vitamin D deficiency/insufficiency is very common in the general French adult population, as confirmed by our results. However, although an increased secretion of PTH in subjects with vitamin D insufficiency is well documented (12), the 25OHD concentration below which PTH levels begin to rise varies widely across studies. It ranged from 10 to 49 ng/mL in a systematic review of literature reporting a PTH-25OHD threshold (20). In the present study, we found that plasma PTH concentration increased when plasma 25OHD values fell below the threshold of 30 ng/mL, a finding consistent with what was previously observed in 1569 samples (different from those of the present study) of the same SU.VI.MAX cohort study in which PTH reached a plateau for a 25OHD concentration of about 31 ng/mL, similarly in all age and gender groups (7). Although part of the discrepancies between PTH-25OHD thresholds across studies may be related to a lack of standardization and operator variability in 25OHD assays (21), it must be

noted that the PTH and 25OHD assays used in the present study and in another published report (7) were different.

We found that the 97.5th percentile of the distribution of the Plasma Cobas PTH values in our whole population was 50.8 ng/L, which is 22% lower than the upper normal value of 65 ng/L provided by the manufacturer of this kit. It decreased to 45.5 ng/L (30% lower than 65) in vitamin D-replete subjects. This is consistent with the results of several studies on smaller samples that we previously conducted (8, 9). For example, when excluding subjects with low 25OHD concentrations from a group of 280 healthy Caucasians aged 60–79 years, the upper limit of the PTH reference interval decreased by 29% and 23% with the Nichols Allegro assay and the Scantibodies CAP assay, respectively (9). More recently, we found that the 97.5th percentile of serum PTH concentrations measured with the same assay as in the present study in 240 healthy adults with a 25OHD greater than 30 ng/mL and an estimated glomerular filtration rate greater than 60 mL/min per 1.73 m² was 50 ng/L (8). Although close to the value of 45.3 ng/L found in the present study, it is slightly higher, which may be explained by the use of serum in that reported elsewhere (8) and plasma in the present study. Indeed, we previously showed that, with this PTH kit, plasma values are slightly lower than serum values (22).

Other authors have recently published PTH reference values in vitamin D-replete populations with the same PTH kit with contrasting results (23, 24). La'ulu and Roberts (23) found that the upper reference limit of serum PTH

values was 73.5 ng/L in 252 apparently healthy subjects and 60.3 ng/L in the 133 subjects with 25OHD greater than 30 ng/mL. Rejnmark et al (24) found that the upper plasma PTH limit was 81 ng/L in 2316 apparently healthy women aged 17–84 years and slightly decreased to 72.6 ng/L and 67 ng/L in women with 25OHD greater than 32 ng/mL ($n = 525$) and 25OHD greater than 40 ng/mL ($n = 182$), respectively. No obvious explanation can be proposed for the differences between these results and especially those of the well-conducted study by Rejnmark et al and our results. Indeed, the fact that they explored only women should not explain their higher PTH limit as in the present study as well as in another report (8), and we did not find different PTH levels in men and in women. Similarly, we do not believe that the larger age range of the population in the study by Rejnmark et al may explain much of the difference because age was not a significant determinant of plasma PTH in our study. However, this deserves further investigation because age was significantly, albeit weakly, correlated with PTH in their study. The probability that interlaboratory differences in PTH levels would explain discrepancies between the study by Rejnmark et al and ours is also low because the kit used in both studies presents a relatively low interlaboratory coefficient of variation (9.7% for PTH concentrations of 53 ng/L and 7.3% for PTH concentrations of 20 ng/L).

The most important reason for these different results probably pertains to the way blood samples were obtained [ie, in the early morning after an overnight fast in our study and between 8:00 AM and 1:00 PM in a nonfasting state in the study by Rejnmark et al (24)]. Indeed, circadian variation of PTH concentration is well documented, with a higher concentration during the late morning-early afternoon period than during early morning hours (25–27). Contrary to our study in which the distribution of PTH in vitamin D-replete subjects was not skewed, it was skewed to the right in the study by Rejnmark et al. It is thus plausible that a subset of their population who had a blood sample at the latest hours influenced the distribution of the PTH values and was responsible for the higher upper limit. Interestingly, the 25OHD concentration below which PTH started to increase in the study by Rejnmark et al was 33 ng/mL, consistent with ours. In the study by La'ulu and Roberts (23), the upper PTH limit in subjects with a 25OHD level greater than 30 ng/mL was between our results and those of Rejnmark et al. They used serum samples (slightly higher values than with plasma with the Cobas kit) and provided no data on the timing and fasting/nonfasting state of blood samples. Moreover, the CI of their upper normal value was high, making their result statistically compatible with both studies.

In addition to considering the vitamin D status, we further stratified our analyses by other potential PTH modifiers. As discussed above, gender and age had no influence on PTH values. However, because only middle-aged subjects were included, age range may have been too narrow to obtain a sufficient PTH contrast between age groups. Our results suggest that the PTH reference value definition should integrate weight status and possibly calcium intake. In overweight vitamin D-replete subjects, the upper PTH value was higher than in their nonoverweight counterparts. In subjects with a 25OHD concentration of 20 ng/mL or greater, the 97.5th percentile for PTH was higher in those with lower calcium intake. This difference disappeared in those with a 25OHD status of 30 ng/mL or greater.

The clinical importance of decreasing the upper normal value of PTH concentrations may be questioned. The obvious consequence is that, in clinical practice, much more patients will be detected as having an increased PTH. It will be thus important to evaluate whether there are plausible reasons for an increased PTH secretion in these patients, a question that, in many cases, will need additional explorations. In 2003 (28), we validated in 708 well-documented consecutive osteopenic patients the upper PTH limit of 46 ng/L (compared with the 65 ng/L value of the manufacturer) that we found with the Nichols Allegro assay in vitamin D-replete subjects (9). We showed that our proposed reference values increased the detection of high PTH levels in normocalcemic patients having a potential reason for an abnormal PTH secretion (better sensitivity) with no more than 3% of patients with a PTH above 46 ng/L and no reason for an increased PTH secretion (no loss of specificity). The gain in sensitivity was important as among 348 patients with a potential cause of increased PTH, 46 (13.2%) had a concentration above 65 ng/L, whereas 126 (36.2%) had a concentration above 46 ng/L. Similarly, in a recent study on the effects of parathyroidectomy on bone mineral density, we found that more than half of our 39 patients with a surgically proven normocalcemic PHPT and 40% of those with a hypercalcemic but asymptomatic form of the disease had a PTH concentration measured with the same assay as in the present study below the manufacturer upper normal value of 65 ng/L (29). All data from our previous studies (8–10, 28, 29) were derived from samples obtained after an overnight fast.

Strengths of our study pertained to the large number of subjects, the population-based recruitment, the ability to stratify the PTH concentrations by 25OHD status, gender, age, weight status, and calcium intake. Some limitations should also be acknowledged. First, this study focused on middle-aged Caucasians; thus, additional studies

are needed to investigate the same aspects in other ethnic groups and younger as well as older adults. In addition, caution is needed when extrapolating these results to the whole French middle-aged Caucasian people because our subjects were volunteers participating in a nutritional intervention study, who generally had a higher education level and occupational status. Second, information on plasma creatinine concentration was available for only 274 subjects. We verified that none of them had an estimated glomerular filtration rate (Modification of Diet in Renal Disease formula) below 60 mL/min per 1.73 m². In addition, three subjects who self-declared a chronic renal failure diagnosed by a physician were excluded from this study. Our results should be confirmed in future studies that precisely control for plasma creatinine concentration in all subjects. Third, measurement of calcium status would have been useful to investigate potential PHPT, but such information was not available in this study. However, this pathology is more prevalent (2%–3%) in women aged 50 years and older (30), which represent only 43% of this study population. Thus, the number of subjects with PHPT, if any, is probably very low. Fourth, the stability over time of PTH preserved in liquid nitrogen has not been documented. However, liquid nitrogen is considered as particularly appropriate for the cryopreservation of biofluids or tissues because its very low temperature strongly inhibits the activity of enzymes. In addition, as previously discussed, our results were very consistent with those of Chapuy et al (7) (on other subjects of the SU.VI.MAX cohort, for whom PTH levels were assessed between 1995 and 1997) in terms of mean PTH concentrations and value of the PTH plateau according to 25OHD levels. This suggests a high stability of the PTH analyte over time, which should be confirmed in ad hoc validation studies. Next, we used only one PTH assay to measure PTH in plasma samples obtained after an overnight fast. Because a huge intermethod variability in PTH results is well documented (8, 22, 31), this study should be extended to other PTH kits. Furthermore, because plasma and serum PTH levels are often different, some kits producing higher plasma concentrations and others producing higher serum concentrations (22, 32), and because the timing of sampling and the fasting/nonfasting status of the subjects/patients influence PTH concentration, a clear consensus statement on the preanalytical requirements for PTH testing (plasma or serum, fasting or not) should be released by an expert panel. Lastly, our results should be reexamined in the future, when the assessment method used for the determination of 25OHD status in this study is definitely calibrated against the recent reference method, based on isotope dilution and mass spectrometry (33).

In conclusion, because even small increases in PTH levels may have potentially harmful bone and possibly non-bone effects, correct detection of abnormal PTH values is of major clinical importance. The present work provided new insights for setting PTH reference values in a large sample of vitamin D-replete middle-aged French Caucasian adults, taking into account other potential modifiers, in line with recent recommendations (15). Our results suggest that the upper limit for plasma PTH measured by the Roche Cobas immunoassay in fasting subjects should be approximately 45 ng/L rather than the 65 ng/L value currently provided by the manufacturer. They also suggest that reference values for PTH could differ according to weight status and calcium intake. These results should contribute to improve the diagnosis of PHPT and SHPT and subsequent therapeutic indication. Further studies are required to evaluate the proposed upper limit for PTH in patient populations, eg, patients with PHPT.

Acknowledgments

We thank Gwenaél Monot, Younes Esseddik, Paul Flanzky, Mohand Ait Oufella, Yasmina Chelghoum, and Than Duong Van (computer scientists), Florence Charpentier (dietitian), Nathalie Arnault, Véronique Gourlet, Fabien Szabo, Laurent Bourhis, and Stephen Besseau (statisticians), and Rachida Mehroug (logistics assistant) for their technical contribution to the SU.VI.MAX study.

The clinical trial registration number of SU.VI.MAX (Supplémentation en Vitamines et Minéraux Antioxydants) (trial registration at clinicaltrials.gov) identifier is NCT00272428.

Address all correspondence and requests for reprints to: Mathilde Touvier, PhD, Nutritional Epidemiology Unit (UREN), INSERM Unité 557; Institut National de la Recherche Agronomique Unité 1125; Conservatoire National des Arts et Métiers, Paris 13 University, SMBH, Paris 13, 74 Rue Marcel Cachin, F-93017 Bobigny, France. E-mail: m.touvier@uren.smbh.univ-paris13.fr.

This work was supported by a grant from the French Research Institute for Public Health (IRESP Grant AAR201206). M.D. was supported by a grant from the Cancéropôle Ile-de-France (public funding from the Paris region). The funding sources had no role in the design, conduct, or reporting of this study.

Disclosure Summary: J.-C.S. reports lecture fees and/or travel/hotel expenses (DiaSorin, Roche Diagnostics, Abbott, Amgen, Shire, MSD, Lilly, and Novartis Santé Famille). The other authors have nothing to disclose.

References

1. Fraser WD. Hyperparathyroidism. *Lancet*. 2009;374(9684):145–158.
2. Sahota O, Masud T, San P, Hosking DJ. Vitamin D insufficiency increases bone turnover markers and enhances bone loss at the hip

- in patients with established vertebral osteoporosis. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1999;51(2):217–221.
3. van Ballegooijen AJ, Reinders I, Visser M, Brouwer IA. Parathyroid hormone and cardiovascular disease events: a systematic review and meta-analysis of prospective studies. *Am Heart J*. 2013;165(5):655–664.
 4. van der Wielen RP, Lowik MR, van den Berg H, et al. Serum vitamin D concentrations among elderly people in Europe. *Lancet*. 1995;346(8969):207–210.
 5. Souberbielle JC, Friedlander G, Cormier C. Practical considerations in PTH testing. *Clin Chim Acta*. 2006;366(1–2):81–89.
 6. Steingrimsdottir L, Gunnarsson O, Indridason OS, Franzson L, Sigurdsson G. Relationship between serum parathyroid hormone levels, vitamin D sufficiency, and calcium intake. *JAMA*. 2005;294(18):2336–2341.
 7. Chapuy MC, Preziosi P, Maamer M, et al. Prevalence of vitamin D insufficiency in an adult normal population. *Osteoporos Int*. 1997;7(5):439–443.
 8. Cavalier E, Delanaye P, Vranken L, et al. Interpretation of serum PTH concentrations with different kits in dialysis patients according to the KDIGO guidelines: importance of the reference (normal) values. *Nephrol Dial Transplant*. 2012;27(5):1950–1956.
 9. Souberbielle JC, Cormier C, Kindermans C, et al. Vitamin D status and redefining serum parathyroid hormone reference range in the elderly. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001;86(7):3086–3090.
 10. Souberbielle JC, Fayol V, Sault C, Lawson-Body E, Kahan A, Cormier C. Assay-specific decision limits for two new automated parathyroid hormone and 25-hydroxyvitamin D assays. *Clin Chem*. 2005;51(2):395–400.
 11. Pilz S, Kienreich K, Drechsler C, et al. Hyperparathyroidism in patients with primary aldosteronism: cross-sectional and interventional data from the GEOCOH study. *J Clin Endocrinol Metab*. 2012;97(1):E75–E79.
 12. Lips P. Vitamin D deficiency and secondary hyperparathyroidism in the elderly: consequences for bone loss and fractures and therapeutic implications. *Endocr Rev*. 2001;22(4):477–501.
 13. Harris SS, Soteriades E, Coolidge JA, Mudgal S, Dawson-Hughes B. Vitamin D insufficiency and hyperparathyroidism in a low income, multiracial, elderly population. *J Clin Endocrinol Metab*. 2000;85(11):4125–4130.
 14. Bell NH, Epstein S, Greene A, Shary J, Oexmann MJ, Shaw S. Evidence for alteration of the vitamin D-endocrine system in obese subjects. *J Clin Invest*. 1985;76(1):370–373.
 15. Eastell R, Arnold A, Brandi ML, et al. Diagnosis of asymptomatic primary hyperparathyroidism: proceedings of the third international workshop. *J Clin Endocrinol Metab*. 2009;94(2):340–350.
 16. Hercberg S, Galan P, Preziosi P, et al. The SU.VI.MAX study: a randomized, placebo-controlled trial of the health effects of antioxidant vitamins and minerals. *Arch Intern Med*. 2004;164(21):2335–2342.
 17. Hercberg S. *Table de composition SU.VI.MAX des Aliments*. Les éditions INSERM, Paris: Economica; 2005.
 18. Rakel A, Brossard JH, Patenaude JV, et al. Overproduction of an amino-terminal form of PTH distinct from human PTH(1–84) in a case of severe primary hyperparathyroidism: influence of medical treatment and surgery. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2005;62(6):721–727.
 19. Knudsen CS, Nexø E, Hojkskov CS, Heickendorff L. Analytical validation of the Roche 25-OH Vitamin D Total assay. *Clin Chem Lab Med*. 2012;50(11):1965–1968.
 20. Aloia JF, Talwar SA, Pollack S, Feuerman M, Yeh JK. Optimal vitamin D status and serum parathyroid hormone concentrations in African American women. *Am J Clin Nutr*. 2006;84(3):602–609.
 21. Carter GD, Carter R, Jones J, Berry J. How accurate are assays for 25-hydroxyvitamin D? Data from the international vitamin D external quality assessment scheme. *Clin Chem*. 2004;50(11):2195–2197.
 22. Joly D, Druce TB, Alberti C, et al. Variation in serum and plasma PTH levels in second-generation assays in hemodialysis patients: a cross-sectional study. *Am J Kidney Dis*. 2008;51(6):987–995.
 23. La'ulu SL, Roberts WL. Performance characteristics of six intact parathyroid hormone assays. *Am J Clin Pathol*. 2010;134(6):930–938.
 24. Rejnmark L, Vestergaard P, Heickendorff L, Mosekilde L. Determinants of plasma PTH and their implication for defining a reference interval. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2011;74(1):37–43.
 25. el-Hajj FG, Klerman EB, Brown EN, Choe Y, Brown EM, Czeisler CA. The parathyroid hormone circadian rhythm is truly endogenous—a general clinical research center study. *J Clin Endocrinol Metab*. 1997;82(1):281–286.
 26. Rejnmark L, Lauridsen AL, Vestergaard P, Heickendorff L, Andersen F, Mosekilde L. Diurnal rhythm of plasma 1,25-dihydroxyvitamin D and vitamin D-binding protein in postmenopausal women: relationship to plasma parathyroid hormone and calcium and phosphate metabolism. *Eur J Endocrinol*. 2002;146(5):635–642.
 27. Smith ER, Cai MM, McMahon LP, Holt SG. Biological variability of plasma intact and C-terminal FGF23 measurements. *J Clin Endocrinol Metab*. 2012;97(9):3357–3365.
 28. Souberbielle JC, Lawson-Body E, Hammadi B, Sarfati E, Kahan A, Cormier C. The use in clinical practice of parathyroid hormone normative values established in vitamin D-sufficient subjects. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003;88(8):3501–3504.
 29. Koumakis E, Souberbielle JC, Sarfati E, et al. Bone mineral density evolution after successful parathyroidectomy in patients with normocalcemic primary hyperparathyroidism. *J Clin Endocrinol Metab*. 2013;98(8):3213–3220.
 30. Lundgren E, Hagstrom EG, Lundin J, et al. Primary hyperparathyroidism revisited in menopausal women with serum calcium in the upper normal range at population-based screening 8 years ago. *World J Surg*. 2002;26(8):931–936.
 31. Souberbielle JC, Boutten A, Carlier MC, et al. Inter-method variability in PTH measurement: implication for the care of CKD patients. *Kidney Int*. 2006;70(2):345–350.
 32. Holmes DT, Levin A, Forer B, Rosenberg F. Preanalytical influences on DPC IMMULITE 2000 intact PTH assays of plasma and serum from dialysis patients. *Clin Chem*. 2005;51(5):915–917.
 33. Stepman HC, Vanderroost A, Van UK, Thienpont LM. Candidate reference measurement procedures for serum 25-hydroxyvitamin D3 and 25-hydroxyvitamin D2 by using isotope-dilution liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Clin Chem*. 2011;57(3):441–448.



Weight Status and Alcohol Intake Modify the Association between Vitamin D and Breast Cancer Risk^{1–3}

Mélanie Deschasaux,^{4*} Jean-Claude Souberbielle,⁵ Paule Latino-Martel,⁴ Angela Sutton,⁶ Nathalie Charnaux,⁶ Nathalie Druesne-Pecollo,⁴ Pilar Galan,⁴ Serge Hercberg,^{4,7} Sigrid Le Clerc,⁸ Emmanuelle Kesse-Guyot,^{4,9} Khaled Ezzedine,^{4,9} and Mathilde Touvier⁴

⁴Sorbonne Paris Cité Epidemiology and Statistics Research Center (CRESS), French National Institute of Health and Medical Research (Inserm U1153), French National Institute for Agricultural Research (INRA U1125), French National Conservatory of Arts and Crafts (CNAM), Paris 13 University, Nutritional Epidemiology Research Team (EREN), Bobigny, France; ⁵Physiology Department, Necker Hospital, Inserm U845, Paris, France; ⁶Biochemistry Department, Jean Verdier Hospital, Inserm U698, Paris 13 University, Bondy, France; ⁷Public Health Department, Avicenne Hospital, Bobigny, France; ⁸Conservatoire National des Arts et Métiers (CNAM), Genomics, Bioinformatics and Applications Team (EA4627), Paris, France; and ⁹Dermatology Department, Saint André Hospital, Bordeaux, France

Abstract

Background: Mechanistic hypotheses suggest that vitamin D may contribute to the prevention of breast cancer. However, epidemiologic evidence is inconsistent, suggesting a potential effect modification by individual factors.

Objective: Our objective was to perform exploratory analyses on the prospective associations between the plasma 25-hydroxyvitamin D [25(OH)D] concentration, polymorphisms of genes encoding for the vitamin D receptor (*VDR*) and vitamin D-binding protein (also known as *gc-globulin* or group-specific component, *GC*), and breast cancer risk, along with 2 potential modifiers: body mass index (BMI; in kg/m²) and alcohol intake.

Methods: A nested case-control study was set up in the Supplémentation en Vitamines et Minéraux Anti-oxydants (SU.VI.MAX) cohort (1994–2007), involving 233 women with breast cancer and 466 matched controls (mean ± SD age: 49 ± 6 y). The plasma total 25(OH)D concentration and gene polymorphisms were assessed on samples obtained at baseline. Conditional logistic regression models were computed.

Results: A higher plasma 25(OH)D concentration was associated with a decreased risk of breast cancer for women with a BMI < the median of 22.4 [OR quartile (Q)4 compared with Q1: 0.46; 95% CI: 0.23, 0.89; *P*-trend = 0.01, *P*-interaction = 0.002], whereas it was associated with an increased risk for women with a BMI ≥ the median (OR Q4 compared with Q1: 2.45; 95% CI: 1.13, 5.28; *P*-trend = 0.02, *P*-interaction = 0.002). A plasma 25(OH)D concentration ≥ 10 ng/mL was associated with a decreased risk of breast cancer for women with alcohol intakes ≥ the median of 7.1 g/d (OR ≥10 compared with <10 ng/mL: 0.50; 95% CI: 0.26, 0.95; *P* = 0.03, *P*-interaction = 0.03). The genetic analyses were consistent with the results observed with plasma 25(OH)D.

Conclusion: In this prospective study, BMI and alcohol intake modified the association between vitamin D [plasma 25(OH)D and vitamin D-related gene polymorphisms] and breast cancer risk. These effect modifications suggest explanations for discrepancies in results of previous studies. This trial was registered at clinicaltrials.gov as NCT00272428. *J Nutr* 2016;146:576–85.

Keywords: 25-hydroxyvitamin D, breast cancer risk, body mass index, alcohol intake, nested case-control study, vitamin D receptor, vitamin D binding protein, single nucleotide polymorphisms

Introduction

Experimental studies have suggested a protective role of vitamin D in breast cancer prevention through cell regulation (anti-proliferation, proapoptosis, and prodifferentiation), involvement in anti-inflammatory pathways, and inhibition of estrogen signaling (1–3). Vitamin D is endogenously synthesized from UVB exposure or absorbed from dietary sources. It is first converted to 25-hydroxyvitamin D [25(OH)D]¹⁰, its main

circulating form, which is used as a marker of vitamin D status, and then to 1,25-dihydroxyvitamin D [1,25(OH)₂D], its biologically active form. Vitamin D pathway relies on several genes such as *VDR*, encoding for the vitamin D receptor, or group-specific component (*GC*), encoding for the vitamin D-binding protein (*VDBP*, also known as *gc-globulin*). Polymorphisms of the *VDR* gene may modify vitamin D signaling, whereas polymorphisms of the *GC* gene may influence vitamin D

transportation. Thus, both genes and their polymorphisms could have an impact on the potential involvement of vitamin D in breast carcinogenesis (1).

Despite these mechanistic hypotheses, current epidemiologic evidence about the association between vitamin D and breast cancer risk is unclear. In 2008, the International Agency for Research on Cancer's report concluded that results on the association between blood 25(OH)D concentration or some VDR gene polymorphisms and breast cancer risk were heterogeneous and insufficient to conclude (4). Since then, several meta-analyses of prospective studies were conducted, among which the most recent study by Kim et al. (5) which observed no association between blood 25(OH)D concentration and breast cancer risk, with heterogeneous results across the included studies. In addition, 2 recent meta-analyses (6, 7) and 1 pooled analysis (8) found no association between VDR *BsmI* and breast cancer risk, 2 meta-analyses (6, 7) found an increased risk of breast cancer associated with VDR *FokI* ff genotype, whereas another study found no association (9). Few case-control studies investigated GC polymorphisms (rs4588 and rs7041) in relation to breast cancer risk and showed inconsistent results (10–12).

These discrepancies in previous epidemiologic findings suggest that individual factors may modify the association between vitamin D and breast cancer risk. Two risk factors for breast cancer should be specifically considered: BMI (in kg/m²) and alcohol intake (13). A higher BMI is associated with a lower circulating plasma 25(OH)D concentration in the SU.VI.MAX (SUpplémentation en Vitamines et Minéraux Anti-oxydants) cohort (14) and in other studies (15), because of a dilution of the lipophilic 25(OH)D in fat mass (16). It was suggested that 1,25(OH)₂D synthesis may be altered in the adipose tissue of obese people (17). Some prospective studies conducted in large cohorts observed that a higher vitamin D status was associated with a decreased breast cancer risk in women with a low BMI (18) whereas it was associated with an increased risk in women with a high BMI (19, 20). For alcohol intakes, moderate levels were associated with an increased vitamin D status in the SU.VI.MAX cohort (14) and in several other studies (15, 21), whereas high intakes are known to be related to a lower vitamin D status (22). Alcohol is an established risk factor for breast cancer (13), acting through various mechanisms [e.g., a rise in circulating estrogens or increased oxidative stress (23, 24)]. These deleterious pathways may be partly counteracted by vitamin D, because mechanistic evidence has suggested that vitamin D may, among other properties, lower estrogen

signaling (2) and decrease oxidative stress and inflammation (1, 3). Thus, if this hypothesis is verified, the potential inverse association between vitamin D and breast cancer would be stronger in alcohol drinkers.

In this context, the objectives of this prospective study were to explore the associations between the plasma 25(OH)D concentration, VDR and GC gene polymorphisms, and breast cancer risk and to investigate potential modifications of these associations by BMI and alcohol intake.

Methods

Subjects. The SU.VI.MAX study was initially designed as a double-blind placebo-controlled trial (registered at clinicaltrials.gov as NCT00272428) to investigate the influence of a daily supplementation with nutritional doses of antioxidants [single capsule of a combination of ascorbic acid (120 mg), vitamin E (30 mg), β-carotene (6 mg), selenium (100 μg), and zinc (20 mg), or placebo] on the incidence of cardiovascular diseases and cancers (25). This 8-y intervention started in France in 1994–1995 with 13,017 enrolled participants (among which were 7876 women aged 35–65 y), and monitoring of health events was pursued until September 2007; 5.2% of all participants were lost to follow-up. Vitamin D was not part of the trial supplementation, and participants were advised against taking any self-prescribed supplements during the trial. All participants gave their written informed consent. The study was conducted according to the Declaration of Helsinki guidelines and was approved by the Ethics Committee for Studies with Human Subjects of Paris-Cochin Hospital (CCPPRB no. 706/no. 2364) and the Commission Nationale de l'Informatique et des Libertés (CNIL no. 334641/no. 907094).

Case ascertainment. Health events were self-reported by the participants during follow-up. All relevant medical information and pathologic reports were gathered through participants, physicians, and/or hospitals and subsequently reviewed by an independent physician expert committee. Validated cases were classified according to the International Chronic Diseases Classification, 10th Revision (26). All first incident primary breast cancers were considered as cases in this study.

Nested case-control study. All women diagnosed with a breast cancer during follow-up (1994–2007; i.e., 13 y of follow-up) were included in a nested case-control study. Two controls per breast cancer case were randomly selected among subjects without breast cancer at the end of follow-up and were matched according to the following baseline criteria: age (<40, 40–44, 45–49, 50–54, and 55–65 y), intervention group in the SU.VI.MAX trial (placebo or supplement), season of blood draw (a priori-defined periods: June–October or November–May), menopausal status (baseline premenopausal or postmenopausal), and use of hormonal treatment for menopause (HTM) at baseline (yes or no).

Data collection. At enrollment, information on sociodemographic characteristics, smoking habits, physical activity, medication use, and health status were collected through self-administered questionnaires. Participants underwent a clinical examination by the study nurses and physicians with anthropometric measurements and a blood draw, occurring after a 12-h fasting period. Venous blood samples (35 mL) were collected in evacuated tubes and immediately centrifuged to get plasma aliquots (preserved in sodium heparin) and buffy-coat fractions (allowing future DNA extraction). Both were stored frozen in liquid nitrogen. Dietary intake data were collected by repeated 24-h dietary records, as previously described (25, 27). The age at menopause was collected from the participants by follow-up questionnaires.

Laboratory assay of the plasma 25(OH)D concentration. As previously described in detail (14, 28), plasma samples obtained at baseline were used to determine the concentration of 25(OH)D. The plasma 25(OH)D concentration was measured with the Roche Cobas

¹ Supported by the French Research Institute for Public Health (IRSEP) grant AAR201206. MD was supported by a PhD grant from the Cancéropôle Ile-de-France (public funding from the Paris region).

² Author disclosures: M Deschasaux, J-C Souberbielle, P Latino-Martel, A Sutton, N Charnaux, N Druetne-Pecollo, P Galan, S Hercberg, S Le Clerc, E Kesse-Guyot, K Ezzedine, and M Touvier, no conflicts of interest. The funding agencies had no role in the design, analysis, or writing of this article.

³ Supplemental Tables 1 and 2 are available from the "Online Supporting Material" link in the online posting of the article and from the same link in the online table of contents at <http://jn.nutrition.org>.

¹⁰ Abbreviations used: ER, estrogen receptor; GC, group-specific component gene; HT, heterozygous type; HTM, hormonal treatment for menopause; MAF, minor allele frequency; MT, homozygous mutant type; SNP, single nucleotide polymorphism; SU.VI.MAX, SUpplémentation en Vitamines et Minéraux Anti-oxydants; VDBP, vitamin D binding protein; VDR, vitamin D receptor gene; WT, wild type; 1,25(OH)₂D, 1,25-dihydroxyvitamin D; 25(OH)D, 25-hydroxyvitamin D.

*To whom correspondence should be addressed. E-mail: m.deschasaux@ren.smbh.univ-paris13.fr.

electrochemoluminescent total 25(OH)D assay, based on the principle of competitive binding (29). The intra-assay CV was 4.5% (the same 8 samples tested 21 times in the same run) and the interassay CV was 6.6% [8 samples of various plasma 25(OH)D concentrations tested in 42 separate runs]. Plasma samples from cases or controls were analyzed in a random order.

Genotyping. Two single nucleotide polymorphisms (SNPs) were selected for VDR and GC genes on the basis of 1) their relative high frequency in Caucasian populations (30): VDR rs1544410 [*BsmI*, minor allele frequency (MAF): T = 0.2959] and rs2228570/10735810 [*FokI*, MAF: A = 0.3285], GC rs4588 (MAF: T = 0.2079), and rs7041 (MAF: C = 0.3816) and 2) their predicted functional effect (31, 32). As previously described in detail (14), genetic polymorphisms were assessed by allelic discrimination with the use of fluorogenic probes and the 5' nuclease (TaqMan) assay (Applied Biosystems). Quality control of genotyping was performed for each SNP by the investigation of any departure from the Hardy-Weinberg equilibrium and the comparison of the observed distributions with those of European reference populations: CSHL-HapMap-CEU and 1000GENOMES-phase_1_EUR (33) by χ^2 tests.

Statistical analysis. From the 277 eligible breast cancer cases, we excluded those diagnosed within the first 2 y of follow-up ($n = 44$) to avoid preclinical bias [i.e., reverse causality: influence of the precancerous condition on blood 25(OH)D concentration and other dietary or lifestyle factors]. Menopausal status at diagnosis was determined by comparing age at diagnosis with the age at menopause reported by the participants.

Baseline characteristics were compared between breast cancer cases and controls with the use of χ^2 tests for categorical variables or Fisher tests (from ANOVA models) for continuous variables.

Associations between breast cancer risk, the plasma 25(OH)D concentration, and the SNPs were characterized by ORs and 95% CIs derived from multivariable logistic regression models. Cases and controls were matched for age at baseline, intervention group of the SU.VI.MAX trial, season of blood draw, use of HTM, and menopausal status at baseline, and models were additionally adjusted for educational level, physical activity, alcohol intake, smoking status, height, BMI, family history of breast cancer, and number of biological children. SNP models were further adjusted for the plasma 25(OH)D concentration. Further adjustments for mean daily energy intake (without alcohol), lipid intake, and oral contraception use at baseline were also tested.

The plasma 25(OH)D concentration was coded as quartiles, and with the use of reference clinical cutoffs [US Institute of Medicine's recommendations for the general population (34)] as follows: severe deficiency (<10 ng/mL) and insufficiency (<20 ng/mL).

Because there is no established hypothesis on the dominant, codominant, or recessive character of the studied SNPs, the 3 following codings were tested: codominant [heterozygous type (HT) compared with wild type (WT) and homozygous mutant type (MT) compared with WT], dominant (HT + MT compared with WT), and recessive (MT compared with WT + HT). To compare with previous studies (10, 11), we also combined the 2 GC genotypes to correspond to the following most common VDBP isoforms (35): Gc1s or Gc1 (rs4588 G and rs7041 C), Gc1f or Gc1 (rs4588 G and rs7041 A), and Gc2 (rs4588 T and rs7041 A).

Two-factor interactions were tested between the plasma 25(OH)D concentration (several codings), the 4 SNPs (codominant, dominant, and recessive codings), BMI (median cutoff), alcohol intake (median cutoff), calcium intake (median cutoff), and baseline HTM use (yes/no) with the introduction of the corresponding product of 2 variables into the logistic regression models [25(OH)D \times BMI, 25(OH)D \times alcohol intake, 25(OH)D \times calcium intake, 25(OH)D \times HTM use, SNPs \times BMI, SNPs \times alcohol intake, SNPs \times 25(OH)D]. Then, stratified analyses were conducted, as appropriate; that is, the association between the plasma 25(OH)D concentration and breast cancer risk was investigated separately in the 2 BMI strata and in the 2 alcohol intake strata. Similar stratified analyses were conducted for each SNP, and analyses were stratified by the plasma 25(OH)D concentration. Median cutoffs were used to maximize statistical power in each stratum. Quartile cutoffs for

the plasma 25(OH)D concentration were determined on the whole population and kept for stratified analyses.

Conditional logistic regression models were used in main analyses to investigate the association between the plasma 25(OH)D concentration and breast cancer risk. As done previously (36), to avoid artificial loss of subjects (e.g., when cases and controls of a same pair do not belong to the same stratum) and maintain statistical power, unconditional logistic regression models adjusted for matching factors were used in stratified analyses by BMI and alcohol intake and in all genetic (SNPs) analyses.

SAS software version 9.3 was used for the analyses (SAS Institute). All statistical tests were 2-sided, and $P < 0.05$ was considered significant. Analyses were performed without (main analysis) and with (sensitivity analysis) adjustment for multiple testing for each exposure of interest. All the P values (P -interaction and P -trend) that resulted from the analyses were put in the PROC MULTTEST [SAS (37)] to perform the false discovery rate adjustment, which controls for the expected proportion of falsely rejected hypotheses (38).

Results

Breast cancer cases ($n = 233$) were included, with a mean age at diagnosis of 56.3 y, and a mean baseline-to-diagnosis time of 7 y. Controls ($n = 466$) were randomly selected and matched to the cases. Baseline characteristics of cases and controls are summarized in Table 1. Compared with controls, breast cancer cases were more likely to be smokers and to have a family history of breast cancer. All studied SNPs respected the Hardy-Weinberg equilibrium ($P > 0.05$), except for a small departure for VDR *BsmI* ($P = 0.02$), but the repartition of subjects across the different genotypes was in accordance with that observed in European reference populations (33) for all SNPs ($P > 0.05$).

The associations between vitamin D status and breast cancer risk overall and stratified according to BMI and to alcohol intake (median cutoffs: 22.4 and 7.1 g/d, respectively) are shown in Table 2. Overall, no association was found between the plasma 25(OH)D concentration and breast cancer risk ($P > 0.6$ with and without multiple-testing adjustment). Although no interaction was detected between the plasma 25(OH)D concentration and HTM use at baseline (P -interaction > 0.5) or calcium intake (P -interaction > 0.2), associations were modified by BMI (P -interaction = 0.002 for all; 0.02 for all after multiple-testing adjustment) and alcohol intake (≥ 10 compared with < 10 ng/mL: P -interaction = 0.03; 0.09 after multiple-testing adjustment).

In women with a BMI $<$ the median, vitamin D status was associated with a decreased risk of breast cancer [P -trend = 0.01 (Q4 compared with Q1), 0.004 (≥ 10 compared with < 10 ng/mL), and 0.06 (≥ 20 compared with < 20 ng/mL); 0.06, 0.02, and 0.1 after multiple-testing adjustment], whereas in women with a BMI \geq the median, vitamin D status was associated with an increased risk of breast cancer [P -trend = 0.02 (Q4 compared with Q1), 0.02 (≥ 10 compared with < 10 ng/mL), and 0.003 (≥ 20 compared with < 20 ng/mL); 0.07, 0.07, and 0.02 after multiple-testing adjustment]. Similar results were observed when the BMI cutoff of 25 (overweight) was retained instead of the BMI median [P -interaction = 0.02 (≥ 10 compared with < 10 ng/mL) and 0.0003 (≥ 20 compared with < 20 ng/mL)], with limited statistical power in the overweight stratum.

A plasma 25(OH)D concentration ≥ 10 ng/mL was associated with a decreased breast cancer risk in women with alcohol intakes \geq the median ($P = 0.03$; 0.09 after multiple-testing adjustment), whereas no association was observed for women with alcohol intakes $<$ the median.

The associations between the 4 studied SNPs and breast cancer risk overall and stratified by the plasma 25(OH)D

TABLE 1 Baseline characteristics of breast cancer cases and controls, SU.VI.MAX cohort, France (1994–2007)¹

Characteristics	Breast cancer cases (n = 233)	Controls (n = 466)	P ²
Age, y	49.3 ± 6.2	49.1 ± 6.1	0.8
BMI, kg/m ²	23.2 ± 4.0	23.5 ± 3.8	0.3
BMI category			0.7
<18.5 kg/m ² (underweight)	11 (4.7)	14 (3.0)	
≥18.5 to <25 kg/m ² (normal weight)	164 (70.4)	328 (70.4)	
≥25 to <30 kg/m ² (overweight)	41 (17.6)	91 (19.5)	
≥30 kg/m ² (obese)	17 (7.3)	33 (7.1)	
Height, cm	162.7 ± 6.4	162.0 ± 6.3	0.2
Intervention group			1
Antioxidants	119 (51.1)	238 (51.1)	
Placebo	114 (48.9)	228 (48.9)	
Smoking status			0.001
Never	133 (57.1)	290 (62.2)	
Former	50 (21.5)	124 (26.6)	
Current	50 (21.5)	52 (11.2)	
Physical activity			0.2
Irregular			
<1 h walking equivalent/d	81 (34.8)	173 (37.1)	
≥1 h walking equivalent/d	84 (36.1)	187 (40.1)	
Educational level			0.8
Primary	48 (20.6)	89 (19.1)	
Secondary	88 (37.8)	187 (40.1)	
Superior	97 (41.6)	190 (40.8)	
Number of biological children	1.9 ± 1.2	2.0 ± 1.1	0.3
Hormonal treatment for menopause (yes)	91 (39.1)	182 (39.1)	1
Menopausal status at baseline			1
Premenopausal	139 (59.7)	278 (59.7)	
Postmenopausal	94 (40.3)	188 (40.3)	
Family history of breast cancer (yes) ³	34 (14.6)	45 (9.7)	0.05
Alcohol intake, g/d	11.0 ± 11.6	11.2 ± 13.9	0.8
Alcohol intake category, g/d			0.02
<10	125 (53.6)	286 (61.4)	
≥10 to <20	69 (29.6)	93 (20.0)	
≥20	39 (16.7)	87 (18.7)	
Plasma 25-hydroxyvitamin D, µg/L	18.9 ± 11.3	18.8 ± 10.2	0.9
≥10	190 (81.6)	385 (82.6)	0.7
≥20	88 (37.8)	170 (36.5)	0.7
Month of blood draw			0.4
October–November	36 (15.5)	67 (14.4)	
December–January	62 (26.6)	152 (32.6)	
February–March	105 (45.1)	196 (42.1)	
April–May	30 (12.9)	51 (10.9)	
VDR <i>BsmI</i> rs1544410 ^{4,5}			0.3
C/C (wild type, bb)	89 (40.6)	157 (36.3)	
C/T (heterozygous type, bB)	96 (43.8)	189 (43.8)	
T/T (homozygous mutant type, BB)	34 (15.5)	86 (19.9)	
VDR <i>FokI</i> rs2228570 ^{4,5}			0.7
G/G (wild type, FF)	78 (35.0)	174 (37.9)	
G/A (heterozygous type, fF)	102 (45.7)	204 (44.4)	
A/A (homozygous mutant type, ff)	43 (19.3)	81 (17.7)	
GC rs4588 ⁴			0.2
G/G (wild type)	101 (45.9)	227 (50.4)	
G/T (heterozygous type)	89 (40.5)	181 (40.2)	
T/T (homozygous mutant type)	30 (13.6)	42 (9.3)	

(Continued)

TABLE 1 Continued

Characteristics	Breast cancer cases (n = 233)	Controls (n = 466)	P ²
GC rs7041 ⁴			0.8
A/A (wild type)	46 (20.7)	91 (20.1)	
A/C (heterozygous type)	110 (49.6)	216 (47.8)	
C/C (homozygous mutant type)	66 (29.7)	145 (32.1)	

¹ Values are means ± SDs or n (%). GC, group-specific component gene; SU.VI.MAX, Supplémentation en Vitamines et Minéraux Anti-oxydants; VDR, vitamin D receptor gene.

² P for the comparison between breast cancer cases and controls used χ^2 tests for categorical variables or Fisher tests (from ANOVA models) for continuous variables.

³ Among first-degree relatives.

⁴ Missing data were as follows: 48 (rs1544410), 17 (rs2228570), 29 (rs4588), 25 (rs7041).

⁵ Equivalence of nomenclature with previous studies for VDR *BsmI* and *FokI*: genotypes B and F correspond to the absence of the *BsmI* and *FokI* restriction sites (in our case, alleles T and G, respectively), and genotypes b and f correspond to the presence of the *BsmI* and *FokI* restriction sites (in our case, alleles C and A, respectively).

concentration, BMI, and alcohol intake (median cutoffs: 16.6 ng/mL, 22.4, and 7.1 g/d, respectively) are shown in Table 3.

GC rs4588 TT genotype was associated with an increased breast cancer risk (recessive model, $P = 0.2$ after multiple-testing adjustment), in particular in women with a BMI < the median (recessive model, P -interaction = 0.2 and $P = 0.1$ after multiple-testing adjustment). A positive association was also observed with the combined genotype Gc2-Gc2 compared with the more common genotypes Gc1-s-1s (OR: 1.98; 95% CI: 1.04, 3.75) and Gc1-Gc1 (OR: 2.02; 95% CI: 1.10, 3.70) (data not tabulated).

VDR *BsmI* TT genotype was associated with a decreased risk of breast cancer in women with a plasma 25(OH)D concentration ≥ the median (recessive model, P -interaction = 0.1 and $P = 0.09$ after multiple-testing adjustment) and in women with alcohol intakes ≥ the median (recessive model, P -interaction = 0.09 and $P = 0.09$ after multiple-testing adjustment).

All SNPs results were similar without adjustment for plasma 25(OH)D (data not shown).

All results mentioned above were similar when further adjustment was performed for a 2-mo period of blood draw, for dietary variables (190 cases/380 controls; data not shown), or for oral contraception use at baseline (193 cases/359 controls) (data not shown). Similar trends were also observed when analyses were restricted to postmenopausal women (160 cases/320 controls; Supplemental Tables 1 and 2), invasive breast cancers (206 cases/412 controls; data not shown), or estrogen-dependent breast cancers [estrogen receptor (ER) positive, 130 cases/260 controls; data not shown]. Statistical power was too limited to perform restricted analyses to premenopausal women, ER-negative breast cancers, or breast cancers in situ. Results of the stratified and genetic analyses were similar when matched models were used (conditional logistic regression) (data not shown).

Discussion

In this nested case-control study, BMI and alcohol intake modified the association between vitamin D and breast cancer risk. The plasma 25(OH)D concentration was associated with a decreased breast cancer risk in women with a BMI < the median, whereas an increased risk was observed for women with a

TABLE 2 Associations between the plasma 25(OH)D concentration and breast cancer risk from multivariable logistic regression: interactions with BMI and alcohol intake and stratified analyses, SU.VI.MAX cohort, France (1994–2007)

	25(OH)D × BMI												
	Overall				BMI < 22.4				BMI ≥ 22.4				
	OR (95% CI)	P-trend	OR (95% CI)	P-trend	OR (95% CI)	P-trend	OR (95% CI)	P-trend	OR (95% CI)	P-trend	OR (95% CI)	P-trend	
Quartiles for 25(OH)D concentration, ng/mL													
Cases, n/controls, n	58/117	0.7	35/34	0.01	23/83	0.02	0.002	0.002	27/80	0.4	31/37	0.2	0.1
O1: <11.4	1.00		1.00		1.00				1.00		1.00		
Cases, n/controls, n	63/111		33/49		30/62				27/50		36/61		
O2: 11.4 to <16.6	1.18 (0.73, 1.91)		0.62 (0.31, 1.22)		2.24 (1.11, 4.52)				1.69 (0.85, 3.34)		0.73 (0.38, 1.41)		
Cases, n/controls, n	56/120		28/64		27/56				31/52		24/68		
O3: 16.6 to <23.5	0.88 (0.53, 1.47)		0.40 (0.20, 0.79)		2.66 (1.26, 5.61)				1.95 (0.94, 3.64)		0.38 (0.19, 0.78)		
Cases, n/controls, n	57/118		34/72		23/46				23/59		34/59		
O4: ≥23.5	0.98 (0.60, 1.61)		0.46 (0.23, 0.89)	0.004	2.45 (1.13, 5.28)	0.02	0.002	0.002	1.23 (0.60, 2.55)	0.3	0.69 (0.35, 1.39)	0.03	0.03
Severe deficiency of 25(OH)D concentration, ng/mL													
Cases, n/controls, n	43/81		27/22		16/59				19/56		24/25		
<10	1.00		1.00		1.00				1.00		1.00		
Cases, n/controls, n	190/385		103/197		87/188				89/185		101/200		
≥10	0.88 (0.57, 1.38)		0.38 (0.20, 0.74)	0.06	2.22 (1.12, 4.40)	0.003	0.002	0.002	1.39 (0.74, 2.61)	0.6	0.50 (0.26, 0.95)	0.8	0.8
Insufficiency of 25(OH)D concentration, ng/mL													
Cases, n/controls, n	145/286		82/112		63/184				68/157		77/139		
<20	1.00		1.00		1.00				1.00		1.00		
Cases, n/controls, n	88/170		48/107		40/63				40/84		48/86		
≥20	1.06 (0.75, 1.50)		0.63 (0.39, 1.01)	2.32 (1.34, 4.03)	1.14 (0.67, 1.91)				1.06 (0.65, 1.73)				

¹ Cases and controls were matched for age at baseline (<40, 40–44, 45–49, 50–54, and 55–65 y), intervention group of the initial SU.VI.MAX trial (antioxidants or placebo), season of blood draw (June–October or November–May), use of hormonal treatment for menopause at baseline (yes or no), and menopausal status at baseline (premenopausal or postmenopausal). Multivariable models were additionally adjusted for educational level (primary, secondary, or superior), physical activity (frigate, <1 h walking equivalent, or ≥1 h walking equivalent), alcohol intake (mg/d; continuous), smoking status (never, former, or current), height (in cm; continuous), BMI (in kg/m²; continuous), family history of breast cancer (yes or no), and number of biological children (continuous). Conditional logistic regression models were used for the overall analysis, whereas unconditional logistic regression models adjusted for the matching factors were used in the stratified analyses, to limit the loss of subjects belonging to discordant pairs. Tests for linear trend were performed with the use of the ordinal score on quartiles of plasma 25(OH)D concentration. O, quartile; SU.VI.MAX, Supplémentation en Vitamines et Minéraux Antioxydants; 25(OH)D, 25-hydroxyvitamin D.

TABLE 3 Associations between polymorphisms of *GC* and *VDR* genes and breast cancer risk, from multivariable logistic regression: interactions with the plasma 25(OH)D concentration, BMI, and alcohol intake and stratified analyses, SU.VI.MAX cohort, France (1994–2007)

	SNP × 25(OH)D concentration						SNP × BMI						SNP × alcohol intake					
	Overall		25(OH)D < 16.6 ng/mL		25(OH)D ≥ 16.6 ng/mL		BMI < 22.4 kg/m ²		BMI ≥ 22.4 kg/m ²		Alcohol < 7.1 g/d		Alcohol ≥ 7.1 g/d					
	OR (95% CI)	P-trend	OR (95% CI)	P-trend	OR (95% CI)	P-trend	OR (95% CI)	P-trend	OR (95% CI)	P-trend	OR (95% CI)	P-trend	OR (95% CI)	P-trend	OR (95% CI)	P-trend		
GC rs4568																		
Codominant																		
Cases, n/controls, n	101/227	0.04	45/107	0.07	56/120	0.4	60/108	0.1	41/119	0.3	44/115	0.03	57/112	0.3	0.5			
GG	1.00		1.00		1.00		1.00		1.00		1.00		1.00					
Cases, n/controls, n	89/181		55/88		34/93		40/88		49/68		44/93		45/88					
GT	1.16 (0.81, 1.66)		1.70 (1.00, 2.88)		0.76 (0.44, 1.29)		0.79 (0.46, 1.35)		1.55 (0.91, 2.65)		1.54 (0.90, 2.65)		0.96 (0.57, 1.62)					
Cases, n/controls, n	39/42		16/26		14/16		22/19		8/23		15/23		15/19					
TT	1.90 (1.10, 3.29)		1.68 (0.78, 3.62)		2.25 (0.98, 5.19)		2.58 (1.20, 5.56)		1.05 (0.41, 2.72)		2.22 (0.99, 4.95)		1.86 (0.88, 4.17)					
Dominant																		
Cases, n/controls, n	101/227	0.1	45/107	0.04	56/120	0.8	60/108	0.8	41/119	0.1	44/115	0.047	57/112	0.7	0.4			
GG	1.00		1.00		1.00		1.00		1.00		1.00		1.00					
Cases, n/controls, n	119/223		71/114		48/109		62/102		57/121		59/116		60/107					
GT + TT	1.29 (0.92, 1.80)		1.69 (1.03, 2.79)		0.95 (0.58, 1.55)		1.05 (0.65, 1.71)		1.46 (0.87, 2.43)		1.67 (1.01, 2.78)		1.11 (0.68, 1.80)					
Recessive																		
Cases, n/controls, n	190/408	0.03	100/195	0.5	90/213	0.02	100/191	0.004	90/217	0.7	88/208	0.1	102/200	0.1	0.9			
GG + GT	1.00		1.00		1.00		1.00		1.00		1.00		1.00					
Cases, n/controls, n	39/42		16/26		14/16		22/19		8/23		15/23		15/19					
TT	1.78 (1.06, 2.99)		1.29 (0.63, 2.62)		2.59 (1.13, 5.68)		2.88 (1.40, 5.96)		0.85 (0.34, 2.10)		1.82 (0.85, 3.86)		1.90 (0.86, 4.10)					
GC rs7041																		
Codominant																		
Cases, n/controls, n	46/91	0.4	23/54	0.5	23/37	0.2	31/46	0.2	15/45	0.3	25/44	0.07	21/47	0.6	0.1			
AA	1.00		1.00		1.00		1.00		1.00		1.00		1.00					
Cases, n/controls, n	110/216		60/108		50/108		57/87		53/129		53/118		57/98					
AC	0.98 (0.63, 1.51)		1.33 (0.72, 2.47)		0.88 (0.36, 1.33)		0.89 (0.48, 1.62)		1.49 (0.73, 3.06)		0.88 (0.36, 1.27)		1.35 (0.70, 2.60)					
Cases, n/controls, n	66/145		33/59		33/86		36/78		30/67		27/72		39/73					
CC	0.83 (0.51, 1.34)		1.29 (0.64, 2.58)		0.82 (0.31, 1.24)		0.69 (0.36, 1.32)		1.53 (0.69, 3.40)		0.51 (0.25, 1.05)		1.23 (0.62, 2.45)					
Dominant																		
Cases, n/controls, n	46/91	0.7	23/54	0.4	23/37	0.2	31/46	0.4	15/45	0.2	25/44	0.1	21/47	0.4	0.1			
AA	1.00		1.00		1.00		1.00		1.00		1.00		1.00					
Cases, n/controls, n	179/261		93/167		83/194		93/165		83/196		80/190		96/171					
AC + CC	0.92 (0.61, 1.38)		1.32 (0.73, 2.37)		0.88 (0.36, 1.22)		0.80 (0.45, 1.40)		1.51 (0.75, 3.02)		0.61 (0.34, 1.12)		1.30 (0.70, 2.39)					
Recessive																		
Cases, n/controls, n	159/307	0.4	83/162	0.8	73/145	0.4	88/133	0.3	88/174	0.7	78/162	0.2	78/145	0.9	0.3			
AA + AC	1.00		1.00		1.00		1.00		1.00		1.00		1.00					
Cases, n/controls, n	66/145		33/59		33/86		36/78		30/67		27/72		39/73					
CC	0.84 (0.59, 1.21)		1.05 (0.61, 1.81)		0.81 (0.48, 1.36)		0.75 (0.45, 1.24)		1.12 (0.64, 1.96)		0.68 (0.39, 1.19)		1.00 (0.60, 1.66)					

(Continued)

TABLE 3 Continued

MDR Genotype	SNP × 25(OH)D concentration				SNP × BMI				SNP × alcohol intake			
	25(OH)D < 16.6 ng/mL		25(OH)D ≥ 16.6 ng/mL		BMI < 22.4 kg/m ²		BMI ≥ 22.4 kg/m ²		Alcohol < 7.1 g/d		Alcohol ≥ 7.1 g/d	
	OR (95% CI)	P-trend	OR (95% CI)	P-trend	OR (95% CI)	P-trend	OR (95% CI)	P-trend	OR (95% CI)	P-trend	OR (95% CI)	P-trend
Dominant	0.1	0.9	0.1	0.4	0.3	0.2	0.8	0.4	0.002	0.01		
Cases, n(controls, n)	89/157	50/80	39/77	49/78	41/79	41/79	36/69	51/88	36/69	51/88		
CC	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00		
Cases, n(controls, n)	96/189	39/91	57/98	59/89	37/100	37/100	43/85	50/94	43/85	50/94		
CT	0.85 (0.59, 1.23)	0.68 (0.39, 1.20)	1.13 (0.66, 1.92)	1.08 (0.61, 1.74)	0.72 (0.40, 1.29)	0.72 (0.40, 1.29)	1.03 (0.59, 1.80)	0.67 (0.40, 1.14)	1.03 (0.59, 1.80)	0.67 (0.40, 1.14)		
Cases, n(controls, n)	34/86	24/40	10/46	19/35	18/51	18/51	22/58	12/48	22/58	12/48		
TT	0.67 (0.41, 1.09)	1.06 (0.54, 2.07)	0.43 (0.19, 0.97)	0.58 (0.29, 1.23)	0.69 (0.34, 1.40)	0.69 (0.34, 1.40)	1.37 (0.69, 2.74)	0.30 (0.14, 0.65)	1.37 (0.69, 2.74)	0.30 (0.14, 0.65)		
Recessive	0.2	0.4	0.7	0.5	0.6	0.2	0.4	0.6	0.02	0.08		
Cases, n(controls, n)	89/157	50/80	39/77	49/78	41/79	41/79	39/69	51/88	39/69	51/88		
CC	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00		
Cases, n(controls, n)	130/275	63/131	67/144	75/124	55/151	55/151	65/142	65/142	65/142	65/142		
CT + TT	0.79 (0.56, 1.12)	0.79 (0.48, 1.32)	0.91 (0.55, 1.51)	0.89 (0.55, 1.46)	0.71 (0.42, 1.21)	0.71 (0.42, 1.21)	1.13 (0.68, 1.89)	0.56 (0.33, 0.90)	1.13 (0.68, 1.89)	0.56 (0.33, 0.90)		
Recessive	0.2	0.4	0.02	0.03	0.1	0.5	0.7	0.3	0.007	0.01		
Cases, n(controls, n)	185/646	86/771	96/175	107/167	78/179	78/179	81/184	104/162	81/184	104/162		
CC + CT	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00		
Cases, n(controls, n)	34/86	24/40	10/46	19/35	18/51	18/51	22/58	12/48	22/58	12/48		
TT	0.73 (0.47, 1.15)	1.29 (0.71, 2.36)	0.40 (0.19, 0.85)	0.58 (0.30, 1.15)	0.82 (0.43, 1.55)	0.82 (0.43, 1.55)	1.35 (0.73, 2.51)	0.38 (0.19, 0.77)	1.35 (0.73, 2.51)	0.38 (0.19, 0.77)		
MDR Fx1	0.8	0.8	0.9	0.8	0.3	0.5	0.2	0.4	0.3	0.2		
Cases, n(controls, n)	78/174	40/86	38/88	43/90	35/84	35/84	37/82	41/92	37/82	41/92		
GG	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00		
Cases, n(controls, n)	102/204	56/103	46/101	52/88	50/116	50/116	49/112	50/92	49/112	50/92		
GA	0.99 (0.69, 1.44)	1.06 (0.63, 1.79)	0.90 (0.52, 1.56)	1.12 (0.65, 1.91)	0.97 (0.56, 1.68)	0.97 (0.56, 1.68)	0.85 (0.49, 1.47)	1.19 (0.70, 2.02)	0.85 (0.49, 1.47)	1.19 (0.70, 2.02)		
Cases, n(controls, n)	43/86	21/36	22/45	30/39	13/42	13/42	18/44	25/37	18/44	25/37		
AA	1.08 (0.67, 1.74)	1.06 (0.54, 2.18)	1.07 (0.55, 2.09)	1.41 (0.75, 2.66)	0.72 (0.33, 1.59)	0.72 (0.33, 1.59)	0.75 (0.37, 1.53)	1.38 (0.71, 2.72)	0.75 (0.37, 1.53)	1.38 (0.71, 2.72)		
Dominant	0.9	0.8	0.8	0.7	0.4	0.3	0.3	0.4	0.4	0.2		
Cases, n(controls, n)	78/174	40/86	38/88	43/90	35/84	35/84	37/82	41/92	37/82	41/92		
GG	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00		
Cases, n(controls, n)	145/285	71/139	68/146	82/127	63/158	63/158	67/156	78/129	67/156	78/129		
GA + AA	1.02 (0.72, 1.44)	1.06 (0.65, 1.75)	0.95 (0.57, 1.58)	1.21 (0.74, 1.98)	0.90 (0.54, 1.53)	0.90 (0.54, 1.53)	0.82 (0.49, 1.37)	1.24 (0.76, 2.04)	0.82 (0.49, 1.37)	1.24 (0.76, 2.04)		
Recessive	0.7	0.9	0.7	0.9	0.3	0.4	0.2	0.5	0.5	0.4		
Cases, n(controls, n)	180/378	96/189	84/189	96/178	85/200	85/200	86/194	94/184	86/194	94/184		
GG + GA	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00		
Cases, n(controls, n)	43/86	21/36	22/45	30/39	13/42	13/42	18/44	25/37	18/44	25/37		
AA	1.09 (0.71, 1.66)	1.05 (0.55, 1.97)	1.14 (0.62, 2.07)	1.33 (0.75, 2.34)	0.74 (0.36, 1.51)	0.74 (0.36, 1.51)	0.82 (0.43, 1.57)	1.25 (0.69, 2.29)	0.82 (0.43, 1.57)	1.25 (0.69, 2.29)		

582 Deschasaux et al.

¹ Unconditional logistic regression models were adjusted for the matching factors: age at baseline (<40, 40–44, 45–49, 50–54, and 55–65 y), intervention group of the initial SU.VI.MAX trial (antioxidants or placebo), season of blood draw (June–October or November–May), use of hormonal treatment for menopause at baseline (yes or no), and menopausal status at baseline (premenopausal or postmenopausal) and were additionally adjusted for 25(OH)D status at baseline (in µg/L; continuous), educational level (primary, secondary, or superior), physical activity (regular, <1 h walking equivalent/d, or ≥1 h walking equivalent/d), alcohol intake (in g/d; continuous), smoking status (never, former, or current), height (in cm; continuous), BMI (in kg/m²; continuous), family history of breast cancer (yes or no), and number of biological children (continuous). Tests for linear trend were performed for the dominant model with the use of the ordinal score on the 3 genotypes. GC, group-specific component gene; SNP, single nucleotide polymorphism; SU.VI.MAX, Supplémentation en Vitamines et Minéraux Anti-oxydants; VDR, vitamin D receptor gene; 25(OH)D, 25-hydroxyvitamin D.

BMI \geq the median. A plasma 25(OH)D concentration \geq 10 ng/mL was associated with a decreased breast cancer risk in women with alcohol intakes \geq the median, whereas no association was observed for women with alcohol intakes $<$ the median. Results observed with the SNPs of VDR and GC genes were consistent with those observed with vitamin D status.

The overall null association between vitamin D status and breast cancer risk was consistent with a recent meta-analysis of 14 prospective studies (5), despite mechanistic hypotheses suggesting that vitamin D would be protective in breast carcinogenesis (1, 2). In our study, interactions between vitamin D and BMI and alcohol intake were observed and may constitute interesting hypotheses to explain this overall null finding.

The interaction between 25(OH)D and BMI has already been observed in previous large prospective studies (European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition, Nurses' Health Study) with results in line with ours (18–20), that is, a tendency for an inverse association in lean women and/or a direct association in women with a higher BMI. The decreased risk of breast cancer observed in women with a BMI $<$ the median could be explained by several vitamin D properties elicited by experimental studies, such as the following: regulation of cell cycle, regulation of circulating estrogens, or involvement in anti-inflammatory pathways (1, 2). Conversely, some mechanistic hypotheses may be suggested to explain the direct association observed between 25(OH)D and breast cancer risk in women with a BMI \geq the median. Increasing BMI was associated with lower circulating 25(OH)D concentrations (14, 15), which is probably because of a dilution of the lipophilic 25(OH)D in fat mass (16). Thus, increasing 25(OH)D blood concentration is likely to be correlated with increasing 25(OH)D in fat mass. Besides, 1,25(OH)₂D synthesis depends on a ratio between the activity of its degradation enzyme and its production enzyme. This ratio may be positively associated with blood 25(OH)D concentration variations, with enhanced degradation when vitamin D status is high (39). Moreover, in the adipose tissue of obese people, this ratio may be altered, with a decreased activity of production enzymes and no difference for degradation enzymes (17). This suggests that, in overweight/obese people, higher 25(OH)D may be associated with a higher 1,25(OH)₂D degradation and thus a lower antiproliferative signal in the adipose tissue and its microenvironment. Thus, this could affect the mammary cells because the mammary gland is surrounded by adipose tissue (40).

To our knowledge, our study is the first prospective study to observe a significant interaction between 25(OH)D and alcohol intake on breast cancer risk [interaction previously tested in nonprospective case-control studies (41, 42)]. The absence of vitamin D deficiency was associated with a decreased breast cancer risk in women with alcohol intakes \geq the median. Alcohol intake was associated with an increased breast cancer risk (13), including in the SU.VI.MAX cohort (43). Several mechanisms are proposed to explain the direct association between alcohol intake and breast cancer risk such as increased circulating estrogens (23) or oxidative stress (24). In the opposite, vitamin D is associated to a decreased estrogen signaling (1, 2) and is involved in anti-inflammatory pathways (1, 3). Avoiding vitamin D deficiency could therefore counteract some harmful effects of alcohol on breast carcinogenesis. Unlike the interaction with BMI, the interaction with alcohol intake was only observed with severe vitamin D deficiency ($<$ \approx 10 ng/mL) and thus needs further confirmation.

The significant interactions between vitamin D and BMI or alcohol suggest that one factor modified the potential effect of

the other on breast cancer risk. Here, the objective was to assess the potential effect of vitamin D on breast cancer risk and how it may be modified by BMI or alcohol intake. However, it will be interesting (beyond the scope of this article) to assess how vitamin D may modify the effect of BMI and alcohol intake on breast cancer risk.

The literature dealing with GC rs4588 and rs7041 polymorphisms in relation to breast cancer risk is limited, with, to our knowledge, only 3 case-control studies. GC rs4588 was not associated with breast cancer risk in any of the studies; GC rs7041 CC genotype was associated with an increased risk of breast cancer (11) or not associated (12); Gc2-Gc2 haplotype (GC rs4588 TT/rs7041 AA) was associated with a decreased risk of breast cancer (10) or not associated (11). In our study, GC rs4588 TT genotype and Gc2-Gc2 haplotype were associated with an increased breast cancer risk. Mechanistic plausibility supports these results. GC rs4588 TT and rs7041 AA genotypes are associated with lower vitamin D status (14, 44, 45). Besides, the Gc2 form of the VDBP has less affinity for 25(OH)D (46), which may affect the active endocytosis of the 25(OH)D-VDBP complex in mammary cells (47) and thus reduce the 1,25(OH)₂D signaling. The Gc2 form of the VDBP may also decrease the production and/or activity of the antitumor VDBP macrophage-activating factor (48–52).

Lack of overall association between VDR *BsmI* and breast cancer risk is in line with recent meta-analyses (6, 7) but could partly be explained by the interactions observed with 25(OH)D and alcohol intake in our study. Some studies have suggested that the VDR *BsmI* B allele may be associated with higher VDR mRNA expression than the b allele (53). This could result in higher 1,25(OH)₂D signaling and thus in breast cancer risk reduction, in particular in at-risk subgroups (consistently with our results of a decreased risk in women with alcohol intakes \geq the median), on the condition that the 1,25(OH)₂D precursor is sufficient (consistent with our result of a decreased risk in women with a plasma 25(OH)D concentration \geq the median).

The strengths of our study pertain to its prospective design, long follow-up, and simultaneous assessment of the plasma 25(OH)D concentration and vitamin D-related polymorphisms. However, limitations should be acknowledged. Although the number of cases was appropriate for the main analyses described here, the relatively small number of cases may have limited our ability to detect some of the hypothesized associations, especially in stratified and in genetic analyses, and to perform separate analyses in specific subgroups (such as obese, premenopausal women, or ER-negative breast tumors). However, this is unlikely to explain the observed relations that were statistically significant, despite the potential power limitation. In this study, multiple tests were performed to investigate potential modifiers of the association between vitamin D and breast cancer risk, thus increasing the risk of chance finding (type I error). Although the associations between the plasma 25(OH)D concentration and breast cancer risk (overall and stratified by BMI and alcohol intake; Table 2) were overall stable when adjustment for multiple testing was performed, all the exploratory analyses that involved the studied SNPs (overall and stratified by BMI and alcohol intake; Table 3) were no longer significant. However, if adjusting for multiple testing decreases the type I error, it also increases the type II error (risk of false negative), which is why this adjustment is debated (54). In addition, our main results are not likely to be entirely explained by chance because they are supported by some experimental data and are consistent with previous large epidemiologic studies. Furthermore, in our population, plasma 25(OH)D

concentrations were relatively low (75% of women <23.5 ng/mL), which narrows our conclusions to the range of concentrations studied here. Only 1 plasma 25(OH)D measurement was available at baseline, whereas repeated measures could have been of interest to study plasma 25(OH)D evolution across time. No information on dose/lifetime duration was available for HTM and oral contraceptive (only use at baseline yes/no), which may have induced some residual confounding. In this study we investigated the association between 4 vitamin D-related gene polymorphisms and breast cancer risk. However, other genes and polymorphisms may also be of interest because of their influence on vitamin D metabolism and thus, potentially, on breast carcinogenesis (55). Finally, BMI may not be perfectly correlated to the amount of adipose tissue in the breast. However, such data (or data on breast density) were not available.

In this prospective study, interactions with BMI and alcohol intake were observed in analyses on vitamin D status and were consistently observed in genetic analyses. Our results showed that vitamin D status was associated with a decreased breast cancer risk in lean women, whereas it was associated with an increased risk in women with a higher BMI. Vitamin D status was also associated with a decreased breast cancer risk in women with moderate-to-high alcohol consumption, whereas no association was observed among women with low alcohol consumption. These effect modifications, supported by mechanistic plausibility, suggest explanations for discrepancies in results between previous epidemiologic studies. Confirmation by further large prospective studies is needed.

Acknowledgments

We thank Younes Esseddik, Gwenaél Monot, Paul Flanzky, Mohand Ait Oufella, Yasmina Chelghoum, and Than Duong Van (computer scientists); Rachida Mehroug (Logistic assistant); and Nathalie Arnault, Véronique Gourlet, Fabien Szabo, Laurent Bourhis, and Stephen Besseau (statisticians) for their technical contribution to the SU.VI.MAX study. MD and MT designed the research; AS, NC, PG, SH, and MT conducted the research; MD performed the statistical analysis; MD and MT wrote the paper; J-CS, PL-M, AS, NC, ND-P, PG, SH, SLC, EK-G, and KE contributed to the data interpretation and revised each draft for important intellectual content; MD and MT had primary responsibility for final content. All authors read and approved the final manuscript.

References

- Feldman D, Krishnan AV, Swami S, Giovannucci E, Feldman BJ. The role of vitamin D in reducing cancer risk and progression. *Nat Rev Cancer* 2014;14:342–57.
- Krishnan AV, Swami S, Feldman D. Vitamin D and breast cancer: inhibition of estrogen synthesis and signaling. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2010;121:343–8.
- Moukayed M, Grant WB. Molecular link between vitamin D and cancer prevention. *Nutrients* 2013;5:3993–4021.
- WHO/IARC. *Vitamin D and Cancer*. Lyon, France; 2008.
- Kim Y, Je Y. Vitamin D intake, blood 25(OH)D levels, and breast cancer risk or mortality: a meta-analysis. *Br J Cancer* 2014;110:2772–84.
- Lee YH, Song GG. Vitamin D receptor FokI, BsmI, ApaI, and TaqI polymorphisms and the susceptibility to breast cancer: a meta-analysis. *Neoplasma* 2014;61:607–16.
- Wang J, He Q, Shao YG, Ji M, Bao W. Associations between vitamin D receptor polymorphisms and breast cancer risk. *Tumour Biol* 2013;34:3823–30.
- McKay JD, McCullough ML, Ziegler RG, Kraft P, Saltzman BS, Riboli E, Barricarte A, Berg CD, Berglund G, Bingham S, et al. Vitamin D receptor polymorphisms and breast cancer risk: results from the National Cancer Institute Breast and Prostate Cancer Cohort Consortium. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2009;18:297–305.
- Shan JL, Dai N, Yang XQ, Qian CY, Yang ZZ, Jin F, Li M, Wang D. FokI polymorphism in vitamin D receptor gene and risk of breast cancer among Caucasian women. *Tumour Biol* 2014;35:3503–8.
- Abbas S, Linseisen J, Slanger T, Kropp S, Mutschelknauss EJ, Fleisch-Janys D, Chang-Claude J. The Gc2 allele of the vitamin D binding protein is associated with a decreased postmenopausal breast cancer risk, independent of the vitamin D status. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2008;17:1339–43.
- Anderson LN, Cotterchio M, Cole DE, Knight JA. Vitamin D-related genetic variants, interactions with vitamin D exposure, and breast cancer risk among Caucasian women in Ontario. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2011;20:1708–17.
- McCullough ML, Stevens VL, Diver WR, Feigelson HS, Rodriguez C, Bostick RM, Thun MJ, Calle EE. Vitamin D pathway gene polymorphisms, diet, and risk of postmenopausal breast cancer: a nested case-control study. *Breast Cancer Res* 2007;9:R9.
- WCRF/AICR. *Systematic Literature Review - Continuous Update Project Report: The Associations between Food, Nutrition and Physical Activity and the Risk of Breast Cancer*. Washington (DC): AICR; 2010.
- Touvier M, Deschasaux M, Montourcy M, Sutton A, Chamaux N, Kesse-Guyot E, Assmann KE, Fezeu L, Latino-Martel P, Druet-Pecollo N, et al. Determinants of vitamin D Status in Caucasian adults: influence of sun exposure, dietary intake, socio-demographic, lifestyle, anthropometric and genetic factors. *J Invest Dermatol* 2015;135:378–88.
- Bertrand KA, Giovannucci E, Liu Y, Malspeis S, Eliassen AH, Wu K, Holmes MD, Laden F, Feskaniich D. Determinants of plasma 25-hydroxyvitamin D and development of prediction models in three US cohorts. *Br J Nutr* 2012;108:1889–96.
- Drincic AT, Armas LA, Van Diest EE, Heaney RP. Volumetric dilution, rather than sequestration best explains the low vitamin D status of obesity. *Obesity (Silver Spring)* 2012;20:1444–8.
- Wamberg L, Christiansen T, Paulsen SK, Fisker S, Rask P, Rejnmark L, Richelsen B, Pedersen SB. Expression of vitamin D-metabolizing enzymes in human adipose tissue—the effect of obesity and diet-induced weight loss. *Int J Obes (Lond)* 2013;37:651–7.
- Engel P, Fagherazzi G, Boutten A, Dupre T, Mesrine S, Boutron-Ruault MC, Clavel-Chapelon F. Serum 25(OH) vitamin D and risk of breast cancer: a nested case-control study from the French E3N cohort. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2010;19:2341–50.
- Eliassen AH, Spiegelman D, Hollis BW, Horst RL, Willett WC, Hankinson SE. Plasma 25-hydroxyvitamin D and risk of breast cancer in the Nurses' Health Study II. *Breast Cancer Res* 2011;13:R50.
- Kühn T, Kaaks R, Becker S, Fomon PP, Clavel-Chapelon F, Kvaskoff M, Dossus L, Tjønneland A, Olsen A, Overvad K, et al. Plasma 25-hydroxyvitamin D and the risk of breast cancer in the European prospective investigation into cancer and nutrition: a nested case-control study. *Int J Cancer* 2013;133:1689–700.
- Larose TL, Chen Y, Camargo CA, Jr, Langhammer A, Romundstad P, Mai XM. Factors associated with vitamin D deficiency in a Norwegian population: the HUNT Study. *J Epidemiol Community Health* 2014;68:165–70.
- Bjørneboe GE, Johnsen J, Bjørneboe A, Rousseau B, Pedersen JI, Norum KR, Morland J, Drevon CA. Effect of alcohol consumption on serum concentration of 25-hydroxyvitamin D3, retinol, and retinol-binding protein. *Am J Clin Nutr* 1986;44:678–82.
- Dumitrescu RG, Shields PG. The etiology of alcohol-induced breast cancer. *Alcohol* 2005;35:213–25.
- Oyesanmi O, Snyder D, Sullivan N, Reston J, Treadwell J, Schoelles KM. Alcohol consumption and cancer risk: understanding possible causal mechanisms for breast and colorectal cancers. *Evid Rep Technol Assess (Full Rep)* 2010;(197):1–151.
- Hercberg S, Galan P, Preziosi P, Bertrais S, Mennen L, Malvy D, Roussel AM, Favier A, Brianccon S. The SU.VI.MAX Study: a randomized, placebo-controlled trial of the health effects of antioxidant vitamins and minerals. *Arch Intern Med* 2004;164:2335–42.
- WHO. *ICD-10, International Classification of Diseases and Related Health Problems*. 10th revision. Geneva (Switzerland): World Health Organization; 2010.

584 Deschasaux et al.

27. Deschasaux M, Zelek L, Pouchieu C, His M, Hercberg S, Galan P, Latino-Martel P, Touvier M. Prospective association between dietary fiber intake and breast cancer risk. *PLoS One* 2013;8:e79718.
28. Touvier M, Deschasaux M, Montourcy M, Sutton A, Chamaux N, Kesse-Guyot E, Fezeu IK, Latino-Martel P, Druesne-Pecollo N, Malvy D, et al. Interpretation of plasma PTH concentrations according to 25OHD status, gender, age, weight status, and calcium intake: importance of the reference values. *J Clin Endocrinol Metab* 2014;99:1196–203.
29. Knudsen CS, Nexø E, Hojskov CS, Heickendorff L. Analytical validation of the Roche 25-OH Vitamin D Total assay. *Clin Chem Lab Med* 2012;50:1965–8.
30. dbSNP. Short Genetic Variations [Internet]. Bethesda (MD): National Center for Biotechnology Information. [cited 2015 Oct 9]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/>.
31. VIB Switch Laboratory. Phenotyping Human Mutations. SNP effect [Internet]. Leuven (Belgium): VIB Switch Laboratory [cited 2015 Oct 9]. Available from: <http://snpeffect.switchlab.org/>.
32. Prioritization of SNPs in genotyping experiments based on functional properties [Internet]. PupaSuite [cited 2015 Oct 9]. Available from: <http://pupasuite.bioinfo.cipfe.es/>.
33. EMBL-EBI, Wellcome Trust Sanger Institute. Ensembl Genome Browser [Internet]. Ensembl. [cited 2015 Oct 9]. Available from: <http://www.ensembl.org/index.html>.
34. Institute of Medicine. Dietary Reference Intakes for Calcium and Vitamin D. Washington (DC): The National Academies Press; 2011.
35. Speeckaert M, Huang G, Delanghe JR, Taes YE. Biological and clinical aspects of the vitamin D binding protein (Gc-globulin) and its polymorphism. *Clin Chim Acta* 2006;372:33–42.
36. Brändstedt J, Almqvist M, Manjer J, Malm J. Vitamin D, PTH, and calcium and the risk of prostate cancer: a prospective nested case-control study. *Cancer Causes Control* 2012;23:1377–85.
37. SAS. The MULTTEST Procedure. Details: p-Values adjustments. SAS/STAT(R) 9.22 User's Guide. Cary (NC): SAS Institute [cited 2015 Oct 9]. Available from: http://support.sas.com/documentation/cdl/en/statug/63347/HTML/default/viewer.htm#statug_multtest_sect014.htm#statug_multtest_multtestfdmmethods.
38. Benjamini Y, Hochberg Y. Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing. *J R Stat Soc B* 1995;57:289–300.
39. Vieth R. How to optimize vitamin D supplementation to prevent cancer, based on cellular adaptation and hydroxylase enzymology. *Anticancer Res* 2009;29:3675–84.
40. Ching S, Kashinkunti S, Niehaus MD, Zinser GM. Mammary adipocytes bioactivate 25-hydroxyvitamin D(3) and signal via vitamin D(3) receptor, modulating mammary epithelial cell growth. *J Cell Biochem* 2011;112:3393–405.
41. Abbas S, Linseisen J, Slinger T, Kropp S, Mutschelknauss EJ, Flesch-Janys D, Chang-Claude J. Serum 25-hydroxyvitamin D and risk of postmenopausal breast cancer—results of a large case-control study. *Carcinogenesis* 2008;29:93–9.
42. Abbas S, Chang-Claude J, Linseisen J. Plasma 25-hydroxyvitamin D and premenopausal breast cancer risk in a German case-control study. *Int J Cancer* 2009;124:250–5.
43. Chhim AS, Fassier P, Latino-Martel P, Druesne-Pecollo N, Zelek L, Duverger L, Hercberg S, Galan P, Deschasaux M, Touvier M. Prospective association between alcohol intake and hormone-dependent cancer risk: modulation by dietary fiber intake. *Am J Clin Nutr* 2015;102:182–9.
44. Ahn J, Yu K, Stolzenberg-Solomon R, Simon KC, McCullough ML, Gallicchio L, Jacobs EJ, Ascherio A, Helzlsouer K, Jacobs KB, et al. Genome-wide association study of circulating vitamin D levels. *Hum Mol Genet* 2010;19:2739–45.
45. Trummer O, Schwetz V, Walter-Finell D, Lerchbaum F, Renner W, Gugatschka M, Dobnig H, Pieber TR, Obermayer-Pietsch B. Allelic determinants of vitamin D insufficiency, bone mineral density, and bone fractures. *J Clin Endocrinol Metab* 2012;97:E1234–40.
46. Amaud J, Constans J. Affinity differences for vitamin D metabolites associated with the genetic isoforms of the human serum carrier protein (DBP). *Hum Genet* 1993;92:183–8.
47. Rowling MJ, Kemmis CM, Taffany DA, Welsh J. Megalin-mediated endocytosis of vitamin D binding protein correlates with 25-hydroxycholecalciferol actions in human mammary cells. *J Nutr* 2006;136:2754–9.
48. Malik S, Fu L, Juras DJ, Karmali M, Wong BY, Gozdzik A, Cole DE. Common variants of the vitamin D binding protein gene and adverse health outcomes. *Crit Rev Clin Lab Sci* 2013;50:1–22.
49. Nagasawa H, Sasaki H, Uto Y, Kubo S, Hori H. Association of the macrophage activating factor (MAF) precursor activity with polymorphism in vitamin D-binding protein. *Anticancer Res* 2004;24:3361–6.
50. Schellenberg D, Pare PD, Weir TD, Spinelli JJ, Walker BA, Sandford AJ. Vitamin D binding protein variants and the risk of COPD. *Am J Respir Crit Care Med* 1998;157:957–61.
51. Yamamoto N, Homma S. Vitamin D3 binding protein (group-specific component) is a precursor for the macrophage-activating signal factor from lysophosphatidylcholine-treated lymphocytes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991;88:539–43.
52. Pacini S, Punzi T, Morucci G, Gulisano M, Ruggiero M. Effects of vitamin D-binding protein-derived macrophage-activating factor on human breast cancer cells. *Anticancer Res* 2012;32:45–52.
53. Uitterlinden AG, Fang Y, van Meurs JB, Pols HA, van Leeuwen JP. Genetics and biology of vitamin D receptor polymorphisms. *Gene* 2004;338:143–56.
54. Rothman KJ. No adjustments are needed for multiple comparisons. *Epidemiology* 1990;1:43–6.
55. Reimers LL, Crew KD, Bradshaw PT, Santella RM, Steck SE, Sirosh I, Terry MB, Hershman DL, Shane E, Cremers S, et al. Vitamin D-related gene polymorphisms, plasma 25-hydroxyvitamin D, and breast cancer risk. *Cancer Causes Control* 2015;26:187–203.



A prospective study of plasma 25-hydroxyvitamin D concentration and prostate cancer risk

Mélanie Deschasaux^{1*}, Jean-Claude Souberbielle², Paule Latino-Martel¹, Angela Sutton³, Nathalie Charnaux³, Nathalie Druésne-Pecollo¹, Pilar Galan¹, Serge Hercberg^{1,4}, Sigrid Le Clerc⁵, Emmanuelle Kesse-Guyot¹, Khaled Ezzedine^{1,6} and Mathilde Touvier¹

¹Sorbonne Paris Cité Epidemiology and Statistics Research Center, Inserm U1153, INRA U1125, Conservatoire National des Arts et Métiers (CNAM), Nutritional Epidemiology Research Team (EREN), Paris 13 University, 93017 Bobigny, France

²Physiology Department, Necker Hospital, Inserm U845, 75015 Paris, France

³Biochemistry Department, Jean Verdier Hospital, Inserm U698, Paris 13 University, 93140 Bondy, France

⁴Public Health Department, Avicenne Hospital, 93017 Bobigny, France

⁵Conservatoire National des Arts et Métiers (CNAM), Genomics, Bioinformatics and Applications Team (EA4627), 75003 Paris, France

⁶Dermatology Department, Saint André Hospital, 33000 Bordeaux, France

(Submitted 16 June 2015 – Final revision received 2 October 2015 – Accepted 5 October 2015 – First published online 16 November 2015)

Abstract

Mechanistic hypotheses suggest that vitamin D and the closely related parathyroid hormone (PTH) may be involved in prostate carcinogenesis. However, epidemiological evidence is lacking for PTH and inconsistent for vitamin D. Our objectives were to prospectively investigate the association between vitamin D status, vitamin D-related gene polymorphisms, PTH and prostate cancer risk. A total of 129 cases diagnosed within the Supplémentation en Vitamines et Minéraux Antioxydants cohort were included in a nested case-control study and matched to 167 controls (13 years of follow-up). 25-Hydroxyvitamin D (25(OH)D) and PTH concentrations were assessed from baseline plasma samples. Conditional logistic regression models were computed. Higher 25(OH)D concentration was associated with decreased risk of prostate cancer (OR_{Q4 v. Q1} 0.30; 95% CI 0.12, 0.77; P_{trend} = 0.007). PTH concentration was not associated with prostate cancer risk (P_{trend} = 0.4) neither did the studied vitamin D-related gene polymorphisms. In this prospective study, prostate cancer risk was inversely associated with 25(OH)D concentration but not with PTH concentration. These results bring a new contribution to the understanding of the relationship between vitamin D and prostate cancer, which deserves further investigation.

Key words: 25-Hydroxyvitamin D; Parathyroid hormone; Prostate cancer risk; SNP; Nested case-control studies

Vitamin D is a prohormone synthesised in the skin from UVB exposure and absorbed from scarce dietary sources. It is first converted to 25-hydroxyvitamin D (25(OH)D) – its main circulating form – and then to 1,25-dihydroxyvitamin D (1,25(OH)₂D) – its biologically active form. As 25(OH)D-to-1,25(OH)₂D conversion and 1,25(OH)₂D signalling can take place directly in prostate tissues⁽¹⁾, vitamin D is thought to play a role in the prevention of prostate cancer through pro-differentiation, pro-apoptosis, anti-proliferative and growth control activities, as suggested by experimental studies^(2–4). However, so far, epidemiological evidence regarding the relationship between 25(OH)D concentration and prostate cancer risk has been inconsistent. On the basis of a dose-response meta-analysis that involved fifteen prospective studies, the World Cancer Research

Fund/American Institute for Cancer Research (WCRF/AICR)⁽⁵⁾, as part of the Continuous Update Project 2014 on prostate cancer, stated that the level of proof for the association between 25(OH)D concentration and prostate cancer risk was still 'limited-no conclusion'. Most of the studies included in this meta-analysis observed null results.

Besides, vitamin D is primarily involved in Ca homeostasis: 1,25(OH)₂D increases Ca concentration through enhanced intestinal Ca absorption, reabsorption of Ca from kidneys and bone resorption. Renal 25(OH)D-to-1,25(OH)₂D conversion is induced by parathyroid hormone (PTH) secretion in response to low Ca concentration. 1,25(OH)₂D exerts in turn a negative feedback on PTH secretion^(6–8). Vitamin D and PTH are thus closely related. To our knowledge, only one prospective study

Abbreviations: 25(OH)D, 25-hydroxyvitamin D; 1,25(OH)₂D, 1,25-dihydroxyvitamin D; *GsR*, Ca-sensing receptor; *CYP24A1*, 1,25-dihydroxyvitamin D₃ 24-hydroxylase; *GC*, vitamin D-binding globulin, gc-globulin or group-specific component; *MAF*, minor allele frequency; *PTH*, parathyroid hormone. *RXR*, retinoid X receptor; *SU.VLMAX*, Supplémentation en Vitamines et Minéraux Antioxydants; *VDR*, vitamin D receptor.

* **Corresponding author:** M. Deschasaux, fax +33 1 48 38 8931, email m.deschasaux@eren.smbh.univ-paris13.fr



has investigated the association between PTH concentration and prostate cancer risk, with null result⁽⁹⁾.

Several genes involved in vitamin D metabolism, in particular signalling (vitamin D receptor (*VDR*) and retinoid X receptor (*RXR*)), transportation (vitamin D-binding protein, also known as ge-globulin or group-specific component (*GC*)) and degradation (1,25-dihydroxyvitamin D3 24-hydroxylase (*CYP24A1*)), or in Ca homeostasis (Ca-sensing receptor (*CaSR*)) could also play a role in prostate cancer aetiology⁽²⁾. Recent meta-analyses found null associations between *VDR* BsmI, FokI and Cdx2 polymorphisms and prostate cancer risk^(10–12). The epidemiological literature dealing with polymorphisms of other genes (*GC*, *CYP24A1*, *RXR* and *CaSR*) in relation to prostate cancer risk is scarce^(13–16).

Thus, our objective was to prospectively investigate the associations between prostate cancer risk and vitamin D status (25(OH)D concentration), plasma PTH concentration and polymorphisms of genes involved in vitamin D metabolism.

Methods

Subjects

The Supplémentation en Vitamines et Minéraux Antioxydants (SU.VI.MAX) study was initially designed as a double-blind placebo-controlled trial (Trial Registration clinicaltrials.gov Identifier: NCT00272428) with purpose to assess the influence of a daily supplementation with nutritional doses of antioxidants (single capsule of a combination of ascorbic acid (120 mg), vitamin E (30 mg), β -carotene (6 mg), Se (100 μ g) and Zn (20 mg) or placebo) on the incidence of CVD and cancers⁽¹⁷⁾. A total of 13 017 participants were enrolled in 1994–1995 for an 8-year-intervention trial and followed up for health events until September 2007. Participants were advised against taking any self-prescribed supplements (vitamin D and others) during the trial.

Ethical approvals

This study was conducted according to the guidelines laid down in the Declaration of Helsinki, and all procedures involving human subjects were approved by the Ethics Committee for Studies with Human Subjects of Paris-Cochin Hospital (CCPPRB no. 706/no. 2364) and the 'Commission Nationale de l'Informatique et des Libertés' (CNIL no. 334641/no. 907094). Written informed consent was obtained from all participants.

Case ascertainment

Health events were self-reported by the participants. Then, all relevant medical information and pathological reports were gathered through participants, physicians and/or hospitals and reviewed by an independent physician expert committee. Histologically validated cases were classified according to the *International Chronic Diseases Classification, 10th Revision, Clinical Modification*⁽¹⁸⁾. All first-incident primary prostate cancers were considered as cases in this study.

Nested case-control study

All prostate cancer cases diagnosed during follow-up (1994–2007 i.e. 13-year of follow-up) were included in a nested case-control

study: one or two controls per case were randomly selected among subjects without prostate cancer by the end of follow-up and matched according to the following baseline criteria: age (<40/40–44/45–49/50–54/55–65 years), intervention group of the initial SU.VI.MAX trial (placebo/antioxidants), season of blood draw (*a priori* defined periods: June–October/November–May) and BMI (<25/ \geq 25 kg/m²).

Baseline data collection

Information on socio-demographics, smoking habits, alcohol consumption, physical activity, medication use and health status was collected at baseline through self-administered questionnaires. Participants underwent a clinical examination by the study nurses and physicians with anthropometric measurements (in particular height and weight) and a blood draw occurring in the early morning after an overnight fasting period of 12 h. A volume of 35 ml venous blood samples was collected in vacutainer tubes (Becton Dickinson) and immediately centrifuged to get plasma aliquots (preserved in Na heparin), and buffy-coat fractions, allowing future DNA extraction. Both were stored frozen in liquid N₂. Participants were asked to provide repeated 24 h-dietary records every 2 months, completed through a French telephone-based terminal equivalent to an internet prototype (Minitel). Portion sizes were assessed by referring to a validated picture booklet⁽¹⁹⁾. The amounts consumed from composite dishes were estimated using French recipes validated by food and nutrition professionals. Mean daily energy and nutrient intakes were estimated from all available 24 h-dietary records completed during the first 2 years of follow-up, using a published French Food Composition Table⁽²⁰⁾.

Laboratory assay of plasma 25-hydroxyvitamin D and parathyroid hormone concentrations

25(OH)D and PTH plasma concentrations were determined on baseline samples, as previously described in detail^(21,22). Plasma 25(OH)D concentration was measured using the Roche Cobas[®] electrochemiluminescence total 25(OH)D assay (Roche Diagnostics), based on the principle of competitive binding⁽²³⁾. Inter-assay CV was <10% (eight samples of various 25(OH)D concentrations tested in forty-two separate runs), whereas intra-assay CV was <6.6% (the same eight samples tested twenty-one times in the same run). Plasma PTH concentration was assessed with the Roche Cobas[®] electrochemiluminescence immunometric assay (Roche Diagnostics), a second-generation PTH assay that uses two anti-PTH antibodies – one directed towards the 26–32 portion of the PTH molecule and another directed towards the 53–84 portion⁽²⁴⁾. Inter-assay CV was <2.9% (three samples of various PTH concentrations tested in forty-two separate runs), and intra-assay CV was <1.4% (the same three samples tested twenty-one times in the same run).

Genotyping

One to three SNP were selected for each gene of interest (*VDR*, *CYP24A1*, *GC*, *RXR* and *CaSR*) on the basis of their relatively high frequency in Caucasian populations

(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/guide/howto/viewgen-freq/>): *VDR* rs1544410 (BsmI, minor allele frequency (MAF): T=0.2959), rs2228570/10735810 (FokI, MAF: A=0.3285) and rs11568820 (Cdx2, MAF: T=0.4569); *CYP24A1* rs4809958 (MAF: G=0.1907); *GC* rs4588 (MAF: T=0.2079) and rs7041 (MAF: C=0.3816); *RXR* rs7861779 (MAF: T=0.2804) and rs12004589 (T=0.1304); *CaSR* rs1801725 (MAF: T=0.0942) and rs4678174 (MAF: C=0.4619), and of their predicted functional effect (Pupasuite database, <http://snpeffect.vib.be> and <http://pupasuite.bioinfo.cipf.es/>). Genomic DNA was extracted from each patient's mononuclear cells in peripheral blood using a MagNA Pure Compact Instrument with a magnetic-bead technology for the isolation process (Roche Diagnostics). Genetic polymorphisms were assessed by allelic discrimination using fluorogenic probes and the 5' nuclease (TaqMan) assay (Applied Biosystems). Quality control of genotyping was carried out for each SNP by investigating any departure from Hardy-Weinberg's equilibrium and comparing observed distributions with those of European reference populations: CSHL-HapMap-CEU and 1000GENOMES-phase_1_EUR (<http://www.ensembl.org/>) by χ^2 tests.

Statistical analyses

Baseline characteristics were compared between prostate cancer cases and controls using χ^2 tests for categorical variables and Fisher's tests (from ANOVA models) for continuous variables. Associations between prostate cancer risk and 25(OH)D plasma concentration, PTH plasma concentration, dietary Ca intake and SNP were characterised by OR and 95% CI derived from multivariate conditional logistic regression models. Models were adjusted for several potential confounders that were as follows: (1) factors constitutive to the study design (intervention group of the initial SU.VI.MAX trial (placebo/antioxidants) and month of blood draw (2-month periods in order to take into account the seasonal variation of 25(OH)D concentration)) and (2) cancer risk factors: major socio-demographic variables (age at baseline (continuous) and educational level (primary/secondary/superior)), lifestyle factors (physical activity (irregular/<1 h/d walking equivalent/ ≥ 1 h/d walking equivalent), alcohol intake (g/d, continuous) and smoking status (never/former/current smoker)), anthropometric variables (height (cm, continuous) and BMI (kg/m², continuous)), factors indicating higher susceptibility to prostate cancer (family history of prostate cancer (yes/no) and baseline serum prostate-specific antigen concentration (<3/>3 μ g/l)). SNP models were also adjusted for 25(OH)D concentration (ng/ml, continuous) in order to investigate the effect of SNP, at equal levels of 25(OH)D. Further adjustments were tested: energy intake (without alcohol, kJ/d (kcal/d), continuous), dietary variables for which a possible association with prostate cancer has been reported⁽⁵⁾, such as dietary intakes of Ca (mg/d, continuous) and dairy products (g/d, continuous), plasma Se (μ mol/l, continuous) and α -tocopherol (μ mol/l, continuous) concentrations and a mutual adjustment for 25(OH)D and PTH concentrations. Although dietary vitamin D intake was not associated with vitamin D status in SU.VI.MAX, as published previously⁽²¹⁾, associations between prostate cancer risk and dietary intakes of vitamin D and Ca were also investigated using conditional logistic regression models (energy-adjusted variables and residual method⁽²⁵⁾).

For all models involving dietary intake data, only subjects who provided at least three valid 24 h-dietary records during the first 2 years of follow-up (ninety-six cases and 123 matched controls) were included.

Plasma 25(OH)D concentration was coded as a continuous variable, as quartiles and as insufficiency (<20 ng/ml) according to the US Institute of Medicine's⁽²⁶⁾ recommendations for the general population. Plasma PTH concentration was coded as a continuous variable and as quartiles. As there is no established hypothesis on the dominant, codominant or recessive character of the studied SNP, the three following codings were tested: codominant (heterozygous type (HT) *v.* wild type (WT) and homozygous mutant type (MT) *v.* WT), dominant (HT+MT *v.* WT) and recessive (MT *v.* WT+HT). Besides, considering the relationships existing between 25(OH)D concentration, polymorphisms of vitamin D-related genes, PTH concentration and Ca⁽⁶⁻⁸⁾, two-way interactions between 25(OH)D concentration, PTH concentration and dietary Ca intake, and between the ten SNP and 25(OH)D concentration were tested by introducing the product of the two variables into the main model. For all covariates, missing data represented <5% and were replaced by the mode.

All statistical tests were two-sided and $P < 0.05$ was considered significant. Analyses were performed using SAS software version 9.3 (SAS Institute).

Results

A total of 129 prostate cancer cases diagnosed within the SU.VI. MAX cohort were included in this study. Mean age at diagnosis was 63.0 years and mean baseline-to-diagnosis time was 8.3 years. Of the cases, 49.2% had a Gleason's score ≥ 7 . A total of 167 controls were randomly selected and matched to the cases. Table 1 summarises the characteristics of prostate cancer cases and controls. Compared with controls, prostate cancer cases were more likely to have a lower vitamin D status at baseline and to be better educated. Severe vitamin D deficiency (<10 ng/ml) was observed for 14.0% of cases and 13.8% of controls, and vitamin D insufficiency (<20 ng/ml) was observed for 62.8% of cases and 54.5% of controls, with no statistically significant difference between cases and controls. A seasonal fluctuation of vitamin D status was observed in controls with decreasing vitamin D status from October to March (shortening days) and increasing vitamin D status in April-May (extending days). All studied SNP respected the Hardy-Weinberg's equilibrium ($P > 0.05$). The repartition of subjects across the different genotypes was in accordance with that observed in European reference populations (CSHL-HapMap-CEU and 1000GENOMES-phase_1_EUR) for all SNP ($P > 0.05$).

25(OH)D concentration was inversely associated with prostate cancer risk (OR_{per 1 ng/ml} 0.96; 95% CI 0.93, 1.00; $P_{\text{trend}} = 0.04$; OR_{Q4 *v.* Q1} 0.30; 95% CI 0.12, 0.77; $P_{\text{trend}} = 0.007$; OR_{<20 *v.* ≥ 20 ng/ml} 0.44; 95% CI 0.23, 0.85; $P = 0.01$, Table 2; OR_{per 30 nmol/l} 0.64; 95% CI 0.42, 0.97; $P_{\text{trend}} = 0.04$, data not tabulated). Using the quartile coding this inverse association was observed in particular for cases with a Gleason's score <7 (sixty-nine cases/ninety controls, OR_{Q4 *v.* Q1} 0.03; 95% CI 0.003, 0.40; $P_{\text{trend}} = 0.02$; data not tabulated), whereas it was not significant for cases with a Gleason's score ≥ 7 (sixty cases/seventy-seven controls, OR_{Q4 *v.* Q1} 0.96; 95% CI 0.23, 4.05; $P_{\text{trend}} = 0.5$; data not tabulated). However, using

Table 1. Baseline characteristics of prostate cancer cases and controls, Supplémentation en Vitamines et Minéraux Antioxydants cohort, France (1994–2007) (Numbers and percentages; mean values and standard deviations)

	Prostate cancer cases (n 129)				Controls (n 167)				P*
	n	%	Mean	sd	n	%	Mean	sd	
Age (years)	55	42.6	54.7	4.7	70	41.9	54.6	4.5	0.9
BMI (kg/m ²)	74	57.4	25.8	3.2	97	58.1	25.6	3.1	0.6
<25									0.9
≥25									
Height (cm)			173.5	6.6			172.8	6.7	0.4
Intervention group									0.9
Antioxidants	55	42.6			72	43.1			
Placebo	74	57.4			95	56.9			
Smoking status									0.8
Never	54	41.9			65	38.9			
Former	59	45.7			78	46.7			
Current	16	12.4			24	14.4			
Physical activity									0.7
Irregular	28	21.7			36	21.6			
<1 h/d walking equivalent	37	28.7			41	24.6			
>1 h/d walking equivalent	64	49.6			90	53.9			
Educational level									0.03
Primary	26	20.2			56	33.5			
Secondary	44	34.1			54	32.3			
Superior	59	45.7			57	34.1			
Prostate-specific antigen (µg/l)			3.4	3.6			1.3	1.3	<0.0001
≥3	42	32.6			14	8.4			<0.0001
<3	14	10.9			9	5.4			0.1
Family history of prostate cancer (yes)†	60	49.2							0.98
Gleason's score ≥ 7‡							28.5	23.6	
Alcohol intake (g/d)			28.5	21.4			9597.7	2008.3	
Energy intake (without alcohol, kJ/d)			9151.2	2545.5			2293.9	480.0	0.1
Energy intake (without alcohol, kcal/d)§			2187.2	608.4			1052.8	331.2	0.3
Dietary Ca intake (mg/d)§			1002.7	394.0			3.2	2.1	0.3
Dietary vitamin D intake (µg/d)§			2.9	2.0					0.2
Month of blood draw									
October–November	10	7.8			26	15.6			
December–January	38	29.5			47	28.1			
February–March	62	48.1			69	41.3			
April–May	19	14.7			25	15.0			
Plasma 25-hydroxyvitamin D (ng/ml)			18.7	8.9			20.5	9.7	0.1
October–November			22.5	10.8			24.2	8.1	
December–January			20.2	10.4			23.5	11.3	
February–March			17.9	7.9			17.4	8.4	
April–May			16.5	6.7			19.5	8.6	
Plasma parathyroid hormone (pg/ml)			26.4	7.4			27.3	9.6	0.4
VDR Bsm1 rs1544410									0.6
C/C (WT)	45	36.3			53	33.8			
C/T (HT)	62	50.0			75	47.8			
T/T (MT)	17	13.7			29	18.5			
VDR FokI rs2228570									0.1
G/G (WT)	45	35.4			75	45.7			
A/G (HT)	64	50.4			62	37.8			
A/A (MT)	18	14.2			27	16.5			



Table 1. Continued

	Prostate cancer cases (n 129)			Controls (n 167)			P*
	n	%	sd	n	%	sd	
VDR Cdx2 rs11568820							
C/C (WT)	75	60.5		86	54.1		0.3
C/T (HT)	41	33.1		66	41.5		
T/T (MT)	8	6.5		7	4.4		
CYP24A1 rs48099581							
G/G (WT)	84	67.7		110	67.9		0.7
G/T (HT)	39	31.5		49	30.3		
T/T (MT)	1	0.8		3	1.9		
GC rs45881							
G/G (WT)	71	57.3		82	49.7		0.3
G/T (HT)	43	34.7		63	38.2		
T/T (MT)	10	8.1		20	12.1		
GC rs70411							
A/A (WT)	19	15.0		39	23.6		0.2
A/C (HT)	63	49.6		76	46.1		
C/C (MT)	45	35.4		50	30.3		
RXR rs78617791							
C/C (WT)	93	73.8		116	73.9		0.7
C/T (HT)	31	24.6		40	25.5		
T/T (MT)	2	1.6		1	0.6		
RXR rs120045891							
G/G (WT)	104	81.9		129	78.7		0.5
G/T (HT)	21	16.5		34	20.7		
T/T (MT)	2	1.6		1	0.6		
CaSR rs18017251							
G/G (WT)	91	72.8		114	70.4		0.4
G/T (HT)	29	23.2		45	27.8		
T/T (MT)	5	4.0		3	1.9		
CaSR rs46781741							
T/T (WT)	62	50.8		76	47.2		0.8
C/T (HT)	52	42.6		72	44.7		
C/C (MT)	8	6.6		13	8.1		

VDR, vitamin D receptor; WT, wild-type; HT, heterozygous type; MT, homozygous mutant type; CYP24A1, 1,25-dihydroxyvitamin D₃ 24-hydroxylase; GC, vitamin D-binding protein, also known as go-globulin or group-specific component; RXR, retinoid X receptor; CaSR, Ca-sensing receptor.

* P value for the comparison between cases and controls using χ^2 tests or Fisher's tests as appropriate.

† Among first-degree relatives.

‡ Data available for 122 cases.

§ Mean dietary intakes from 24 h dietary records during the first 2 years of follow-up, data available for 167 controls and 122 cases.

¶ Missing data were as follows: 15 (rs1544410), 5 (rs2228570), 13 (rs11568820), 10 (rs4809958), 7 (rs4588), 4 (rs7041), 13 (rs7861779), 5 (rs12004589), 9 (rs1801725), 13 (rs4678174).

Table 2. Associations between 25-hydroxyvitamin D (25(OH)D) and parathyroid hormone (PTH) plasma concentrations, and prostate cancer risk, from conditional logistic regression, Supplémentation en Vitamines et Minéraux Antioxydants (SU.VI.MAX) cohort, France (1994–2007)
(Odds ratios and 95% confidence intervals)

	Quantiles*												Insufficiency			
	Per 1 unit increment			Q1		Q2		Q3		Q4		<20 ng/ml		≥20 ng/ml		
	OR	95% CI	P _{trend}	OR	95% CI	OR	95% CI	OR	95% CI	OR	95% CI	OR	95% CI	OR	95% CI	P
25(OH)D (ng/ml)																
Cases/controls	129/167			42/32	31/43	25/49	31/43	25/49	31/43	81/91	48/76					
Model 1†	0.96	0.93, 1.00	0.04	1.00	0.44	0.19, 1.04	0.18	0.07, 0.49	0.30	0.12, 0.77	1.00	0.44	0.23, 0.85	0.01		
Cases/controls	96/123			27/20	23/35	20/35	26/33	20/35	26/33	57/66	39/57					
Model 2†	0.95	0.91, 1.00	0.06	1.00	0.35	0.12, 1.07	0.13	0.04, 0.49	0.25	0.08, 0.81	1.00	0.43	0.19, 1.00	0.05		
Cases/controls	96/123			27/20	23/35	20/35	26/33	20/35	26/33	57/66	39/57					
Model 3†	0.95	0.91, 1.01	0.08	1.00	0.33	0.11, 1.03	0.12	0.03, 0.46	0.28	0.08, 0.95	1.00	0.43	0.18, 1.01	0.05		
PTH (pg/ml)																
Cases/controls	129/167			31/43	34/40	34/40	30/44	34/40	30/44	0.66	0.28, 1.55	0.4				
Model 1†	0.97	0.94, 1.01	0.1	1.00	0.90	0.40, 2.05	0.95	0.40, 2.27	0.66	0.28, 1.55	0.4					
Cases/controls	96/123			20/35	30/26	27/30	19/32	27/30	19/32	0.77	0.25, 2.36	0.6				
Model 2†	0.96	0.91, 1.01	0.09	1.00	1.72	0.60, 4.90	1.95	0.62, 6.18	0.77	0.25, 2.36	0.6					
Cases/controls	96/123			20/35	30/26	27/30	19/32	27/30	19/32	0.81	0.25, 2.62	0.8				
Model 3†	0.96	0.91, 1.01	0.1	1.00	1.63	0.56, 4.77	2.25	0.67, 7.59	0.81	0.25, 2.62	0.8					

Q, quantiles.
* Model 1: cut-offs for quantiles of 25(OH)D plasma concentration (ng/ml) and PTH plasma concentration (pg/ml) were, respectively, 12.9/19.2/24.7 and 20.9/28.0/30.6. Models 2 and 3 are restricted to men who provided at least three valid 24-h dietary records (ninety-six cases/123 controls); cut-offs for quantiles of 25(OH)D plasma concentration (ng/ml) and PTH plasma concentration (pg/ml) were, respectively, 13.7/18.5/25.2 and 20.9/25.9/30.2.
† Model 1 was adjusted for age at baseline (continuous, matching factor), intervention group of the initial SU.VI.MAX trial (antioxidants/placebo, matching factor), month of blood draw (October–November/December–January/February–March/April–May), educational level (primary/secondary/superior), physical activity (regular/irregular walking equivalent), alcohol intake (g/d, continuous), smoking status (never/former/current), height (cm, continuous), BMI (kg/m², continuous, matching factor), family history of prostate cancer (yes/no) and baseline serum prostate-specific antigen concentration (<3.23 ng/l). Model 2 corresponds to model 1 further adjusted for energy intake (without alcohol) (continuous, kcal/d (kcal/d)), dietary intakes of Ca (continuous, mg/d) and dairy products (continuous, g/d), plasma Se (continuous, μmol/l) and α-tocopherol (continuous, μmol/l) concentrations. Model 3 corresponds to model 2 with further mutual adjustment for 25(OH)D and PTH plasma concentrations (continuous).

Table 3. Associations between SNP of genes involved in vitamin D metabolism and prostate cancer risk, from conditional logistic regression, Supplémentation en Vitamines et Minéraux Antioxydants (SU.VI.MAX) cohort, France (1994–2007) (Odds ratios and 95% confidence intervals)

	WT		HT		MT		<i>P</i> _{trend}
	Cases/controls*	OR	Cases/controls*	95% CI	Cases/controls*	95% CI	
<i>VDR</i> Bsm1 rs1544410							
Cases/controls*	42/52		60/73		16/27		
Model†	1.00		1.13	0.57, 2.22	0.81	0.34, 1.92	0.8
<i>VDR</i> FokI rs2228570							
Cases/controls*	43/74		64/61		18/26		
Model†	1.00		1.86	0.98, 3.52	1.06	0.46, 2.48	0.5
<i>VDR</i> Cdx2 rs11568820							
Cases/controls*	72/83		38/62		8/7		
Model†	1.00		0.52	0.27, 1.01	0.61	0.17, 2.20	0.1
<i>CYP24A1</i> rs4809958							
Cases/controls*	82/106		39/46		1/3		
Model†	1.00		0.79	0.40, 1.57	0.25	0.02, 3.56	0.3
<i>GC</i> rs4588							
Cases/controls*	70/79		42/59		10/20		
Model†	1.00		0.90	0.47, 1.70	0.69	0.24, 1.96	0.5
<i>GC</i> rs7041							
Cases/controls*	19/38		61/75		45/49		
Model†	1.00		1.34	0.54, 3.33	1.39	0.60, 3.26	0.5
<i>RXR</i> rs7861779							
Cases/controls*	87/114		30/38		2/1		
Model†	1.00		1.19	0.59, 2.41	4.49	0.21, 95.0	0.5
<i>RXR</i> rs12004589							
Cases/controls*	102/128		21/32		2/1		
Model†	1.00		0.71	0.34, 1.52	2.76	0.14, 52.9	0.6
<i>CaSR</i> rs1801725							
Cases/controls*	86/111		29/43		5/3		
Model†	1.00		0.72	0.35, 1.46	2.47	0.36, 16.8	0.9
<i>CaSR</i> rs4678174							
Cases/controls*	60/72		49/67		7/12		
Model†	1.00		0.74	0.40, 1.39	0.37	0.09, 1.43	0.1

WT, wild type; HT, heterozygous type; MT, homozygous mutant type; *VDR*, vitamin D receptor; *CYP24A1*, 1,25-dihydroxyvitamin D₃ 24-hydroxylase; *GC*, vitamin D-binding protein, also known as go-globulin or group-specific component; *RXR*, retinoid X receptor; *CaSR*, Ca-sensing receptor.

* Missing data were as follows: 15 (rs1544410), 5 (rs2228570), 13 (rs11568820), 10 (rs4809958), 7 (rs4588), 4 (rs7041), 13 (rs7861779), 5 (rs12004589), 9 (rs1801725), 13 (rs4678174). Because of the conditional logistic regression model (matched analyses), cases with no control and controls with no case were deleted from the analysis.

† Adjusted for 25-hydroxyvitamin D concentration (continuous, ng/ml), age at baseline (continuous, matching factor), intervention group of the initial SU.VI.MAX trial (antioxidants/placebo, matching factor), educational level (primary/secondary/superior), physical activity (irregular <1 h/d walking equivalent/≥1 h/d walking equivalent), alcohol intake (g/d, continuous), smoking status (never/former/current), height (cm, continuous), BMI (kg/m², continuous, matching factor), family history of prostate cancer (yes/no) and baseline serum prostate-specific antigen concentration (<3/≥3 ng/l).

the continuous 25(OH)D variable or the 20 ng/ml cut-off, these associations were not significant in both Gleason's subgroups. Exclusion of cases diagnosed during the first 5 years of follow-up provided similar results (109 cases/140 controls, OR_{per 1 ng/ml} 0.96; 95% CI 0.93, 1.00; *P*_{trend} = 0.04; OR_{Q4 v. Q1} 0.33; 95% CI 0.12, 0.86; *P*_{trend} = 0.01; OR_{<20 v. ≥20 ng/ml} 0.45; 95% CI 0.23, 0.89; *P* = 0.02; data not tabulated). No interaction was observed between 25(OH)D concentration and the intervention group of the SU.VI.MAX trial (*P*_{interaction} > 0.1 for all codings).

Plasma PTH concentration was not associated with prostate cancer risk (OR_{Q4 v. Q1} 0.66; 95% CI 0.28, 1.55; *P*_{trend} = 0.4) (Table 2). This result was similar (124 cases/157 controls) after removing participants with possibly abnormal PTH values that may suggest potential hyperparathyroidism (i.e. PTH ≥ 50.8 pg/ml if 25(OH)D < 20 ng/ml, PTH ≥ 45.5 pg/ml if 20 ng/ml ≤ 25(OH)D < 30 ng/ml and PTH ≥ 45.3 pg/ml if 25(OH)D ≥ 30 ng/ml, as previously recommended⁽²²⁾).

Dietary Ca intake was not associated with prostate cancer risk (ninety-six cases/123 controls, OR_{Q4 v. Q1} 0.83; 95% CI 0.20, 3.43; *P*_{trend} = 0.5, data not tabulated), nor did dietary intake of vitamin D (ninety-six cases/123 controls, OR_{Q4 v. Q1} 1.05; 95% CI 0.40, 2.81; *P*_{trend} = 0.7, data not tabulated).

All results were similar when models were further adjusted for dietary variables (although some of the results were only borderline significant due to loss of statistical power: ninety-six cases/123 controls), dietary Ca and mutual adjustments for 25(OH)D and PTH. Two-way interactions between 25(OH)D, PTH and dietary Ca intake were not statistically significant (all *P* > 0.1, data not shown).

No association was observed between the ten studied vitamin D-related SNP and prostate cancer risk in the codominant (Table 3), dominant and recessive models (data not tabulated). No interaction was observed between the SNP and 25(OH)D concentration (all *P* > 0.1, data not shown). As no association was detected between the ten SNP and prostate cancer with a *P* value

threshold of 0.05, no association was detected after adjustment for multiple testing (Bonferroni correction) (data not shown).

Discussion

In this prospective study, plasma 25(OH)D concentration was inversely associated with prostate cancer risk. No association was detected for plasma PTH concentration or the studied SNP.

We observed an inverse association between 25(OH)D concentration and prostate cancer risk. Recently, a high *v.* low meta-analysis by Xu *et al.*⁽²⁷⁾ (summary OR_{high *v.* low} 1.17; 95% CI 1.05, 1.30) and a dose-response meta-analysis by the WCRF⁽⁵⁾ (summary RR_{per 30 nmol/l} 1.04; 95% CI 1.00, 1.07) suggested an increased risk. However, in a previous study by Tuohimäki *et al.*⁽²⁸⁾, both high and low 25(OH)D concentrations were associated with increased prostate cancer risk: increased risk was observed for 25(OH)D concentration ≥ 32 or < 15.6 ng/ml compared with 16–23.6 ng/ml. This U-shaped association is supported by the evidence of non-linearity observed in the WCRF dose-response meta-analysis⁽⁵⁾. In our study, the range of 25(OH)D concentrations observed (95th percentile = 36.3 ng/ml) may be positioned in the left part of this U-shaped curve, which may explain why a decreased prostate cancer risk was observed for 25(OH)D ≥ 20 ng/ml (insufficiency) or ≥ 18.2 ng/ml (median) compared with 25(OH)D < 20 or < 12.9 ng/ml (quartile 1 (Q1)), respectively. Consistently, a recent study by Kristal *et al.*⁽²⁹⁾ observed a decreased prostate cancer risk associated with 25(OH)D concentrations between 23.3 and 29.2 ng/ml (3rd quintile) compared with 25(OH)D < 17.7 ng/ml (1st quintile). In contrast, some studies observing an increased risk may involve 25(OH)D concentrations situated in the right part of the U-shaped curve. For example, Brandstedt *et al.*⁽⁹⁾ observed an increased risk for 25(OH)D concentrations ≥ 34 ng/ml compared with 25(OH)D concentrations ≤ 27.2 ng/ml, and Meyer *et al.*⁽³⁰⁾ observed an increased risk for 25(OH)D concentrations ≥ 28 ng/ml compared with 25(OH)D concentrations between 20 and 28 ng/ml. Studies observing non-significant results may involve middle-range concentrations (such as the study by Skrabby *et al.*⁽³¹⁾). However, this point remains unclear as some studies that involved high 25(OH)D concentrations observed non-significant results^(32,33), and some other studies observed a significant direct association between prostate cancer risk and 25(OH)D concentrations, even at relatively low levels⁽³⁴⁾. Thus, further studies are needed that take into account the distribution of 25(OH)D concentrations in the studied population and its position in the potential U-shaped curve. In addition, it has been suggested that large seasonal fluctuations of vitamin D status may also contribute to explain the positive association between 25(OH)D concentration and prostate cancer risk in some studies⁽³⁵⁾, adding to the complexity of this relationship. In the SU.VI.MAX cohort (Touvier *et al.*⁽²¹⁾ and Table 1), seasonal fluctuation of vitamin D status was moderate with the lowest 25(OH)D concentrations observed in late winter/early spring (shorter days), consistently with the existing literature in France⁽³⁶⁾ and in other countries such as the USA^(37–39).

The potentially protective role of vitamin D in prostate carcinogenesis observed in our study is supported by mechanistic hypotheses. Indeed, prostate cells can express the

25(OH)D-to-1,25(OH)₂D conversion enzyme and the vitamin D receptor⁽¹⁾ and vitamin D is thought to be involved in several cell regulation pathways: pro-differentiation, pro-apoptosis, anti-proliferation and cell growth^(2–4).

In our study, when 25(OH)D was coded into quartiles, a decreased prostate cancer risk was observed for Gleason's score < 7 but not for Gleason's score ≥ 7 . However, when using the other codings (continuous and 20 ng/ml cut-off), the association was non-significant in both cancer subgroups. As statistical power was limited in stratified analyses, these results should be considered with caution and further explored in large prospective studies. Thus far, the results regarding potential differences according to prostate cancer stage/grade are unclear, as shown in the WCRF meta-analysis⁽⁵⁾, where no difference was observed between advanced/high-grade or non-advanced/low-grade prostate cancers (non-significant results in both groups), or in a recent study by Kristal *et al.*⁽²⁹⁾, where a decreased prostate cancer risk was observed whatever the Gleason's score.

The lack of association between the ten studied SNP and prostate cancer risk in our study does not seem to support the protective role of vitamin D in prostate carcinogenesis suggested by our results on plasma 25(OH)D concentration. However, in this study, statistical power was limited in the analyses of SNP, especially for the homozygote mutant genotypes. This could explain the null associations observed. Consistent with our findings, several meta-analyses^(10–12) and one recent prospective study⁽¹³⁾ found null associations between *VDR* BsmI, FokI and *Cdx2* polymorphisms and prostate cancer risk. Another study (not included in these meta-analyses) observed an increased prostate cancer associated with *VDR* BsmI GG genotype among men in the first tertile of plasma 25(OH)D concentration. The epidemiological literature dealing with the other studied polymorphisms is scarce. One study⁽¹³⁾ observed an increased prostate cancer risk associated with *GC* rs4588 T allele or *GC* rs7041 A allele. In SU.VI.MAX⁽²¹⁾, these alleles were associated with a lower vitamin D status. Another study⁽¹⁵⁾ observed a decreased lethal prostate cancer risk associated with *CaSR* rs1801725 among men with low plasma 25(OH)D concentration. To our knowledge, no study has investigated the other selected SNP (*CYP24A1* rs4809958, *RXR* rs7861779 and rs12004589 and *CaSR* rs4678174) in relation to prostate cancer risk. Besides, other vitamin D-related SNP than the ones included in the present study may also be associated with prostate cancer risk, as observed by Mondul *et al.*⁽¹⁴⁾, and deserve further investigation.

Plasma PTH concentration was not associated with the risk of prostate cancer. To our knowledge, our study was only the second to investigate this relationship, the first one having observed null results⁽⁹⁾. In a previous study performed in the SU.VI.MAX cohort⁽²²⁾, we observed an inverse correlation between 25(OH)D and PTH concentrations, with a threshold value for PTH when 25(OH)D was approximately 30 ng/ml. Thus, it could be expected that PTH concentration would decrease as 25(OH)D concentration increases. Mechanistic data are unclear regarding a potential involvement of PTH in prostate carcinogenesis. Although some data have suggested a potential pro-carcinogenic role of PTH^(40–42) (potential mitogenic activity in preneoplastic lesions), others support a potential protective role. Indeed, high PTH concentration may decrease growth hormone secretion, thereby decreasing

circulating insulin-like growth factor-1 (IGF-1) concentration^(43,44); IGF-1 being considered as a potential risk factor for prostate cancer^(45,46). Thus, further investigation is needed on the association between PTH concentration and prostate cancer risk.

Strengths of our study pertained to its prospective design, long follow-up, simultaneous assessment of 25(OH)D and PTH plasma concentrations, vitamin D-related gene polymorphisms and dietary intakes, and the consideration of numerous confounding factors. However, limitations should be acknowledged. First, blood Ca concentration was not available in our study. Ca concentration would have provided more information regarding the association between 25(OH)D, PTH, Ca and prostate cancer risk. Dietary Ca intake was available, but intakes within normal range are poorly correlated with blood Ca concentration⁽⁴⁷⁾, which is under homeostatic control. Second, only one plasma 25(OH)D and PTH measurement was available at baseline. Repeated measures could have been of interest to study their evolution across time. Third, although the number of cases was appropriate for the analyses described here, it has limited our ability to perform separate analyses in specific subgroups, in particular regarding genetic polymorphisms or prostate cancer grade. Finally, the observed inverse association between vitamin D status and prostate cancer could be partly explained by reverse causality, considering the long lasting development of this cancer. However, results were similar when excluding cases diagnosed within the first 5 years of follow-up, thus arguing against reverse causality.

In this prospective study, the association between vitamin D and prostate cancer risk was addressed through 25(OH)D concentration, polymorphisms of vitamin D-related genes and PTH concentration. Prostate cancer risk was inversely associated with 25(OH)D concentration but not with PTH concentration. These results, supported by mechanistic data, bring a new contribution to the understanding of the relationship between vitamin D and prostate cancer risk and deserve further exploration.

Acknowledgements

The authors thank Younes Esseddik, Gwenael Monot, Paul Flanzy, Mohand Ait Oufella, Yasmina Chelghoum and Than Duong Van (computer scientists), Rachida Mehroug (logistic assistant) and Nathalie Arnault, Véronique Gourlet, Fabien Szabo, Laurent Bourhis and Stephen Besseau (statisticians) for their technical contribution to the Supplémentation en Vitamines et Minéraux Antioxydants study.

This work was supported by the French Research Institute for Public Health (IRESP grant number AAR201206) and M. D. was funded by a PhD grant from the 'Cancéropôle Ile-de-France' (public funding from the Paris region). The funders had no role in the design, analysis or writing of this article.

The author's responsibilities were as follows – M. D. and M. T. designed the research; S. H., P. G., M. T., A. S. and N. C. conducted the research; M. D. performed statistical analysis; M. D. and M. T. wrote the paper; J.-C. S., P. L.-M., A. S., N. C., N. D.-P., P. G., S. H., S. L. C., E. K.-G. and K. E. contributed to the data interpretation and revised each draft for important intellectual content; and M. D. and M. T. had the primary responsibility for final content. All authors read and approved the final manuscript.

The authors declare that they have no conflicts of interest.

References

- Schwartz GG, Whitlatch LW, Chen TC, *et al.* (1998) Human prostate cells synthesize 1,25-dihydroxyvitamin D₃ from 25-hydroxyvitamin D₃. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* **7**, 391–395.
- Feldman D, Krishnan AV, Swami S, *et al.* (2014) The role of vitamin D in reducing cancer risk and progression. *Nat Rev Cancer* **14**, 342–357.
- Swami S, Krishnan AV, Wang JY, *et al.* (2012) Dietary vitamin D(3) and 1,25-dihydroxyvitamin D(3) (calcitriol) exhibit equivalent anticancer activity in mouse xenograft models of breast and prostate cancer. *Endocrinology* **153**, 2576–2587.
- Rohan JN & Weigel NL (2009) 1 α ,25-dihydroxyvitamin D₃ reduces c-Myc expression, inhibiting proliferation and causing G1 accumulation in C4-2 prostate cancer cells. *Endocrinology* **150**, 2046–2054.
- World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research (WCRF/AICR) (2014) *Systematic Literature Review-Continuous Update Project Report: Diet, Nutrition, Physical Activity, and Prostate Cancer*. Washington, DC: AICR.
- Norman AW (2008) From vitamin D to hormone D: fundamentals of the vitamin D endocrine system essential for good health. *Am J Clin Nutr* **88**, 491S–499S.
- Felsenfeld AJ, Rodriguez M & Aguilera-Tejero E (2007) Dynamics of parathyroid hormone secretion in health and secondary hyperparathyroidism. *Clin J Am Soc Nephrol* **2**, 1283–1305.
- DeLuca HF (2004) Overview of general physiologic features and functions of vitamin D. *Am J Clin Nutr* **80**, 1689S–1696S.
- Brandstedt J, Almquist M, Manjer J, *et al.* (2012) Vitamin D, PTH, and calcium and the risk of prostate cancer: a prospective nested case-control study. *Cancer Causes Control* **23**, 1377–1385.
- Xu Y, He B, Pan Y, *et al.* (2014) Systematic review and meta-analysis on vitamin D receptor polymorphisms and cancer risk. *Tumour Biol* **35**, 4153–4169.
- Guo Z, Wen J, Kan Q, *et al.* (2013) Lack of association between vitamin D receptor gene FokI and BsmI polymorphisms and prostate cancer risk: an updated meta-analysis involving 21756 subjects. *Tumour Biol* **34**, 3189–3200.
- Yin M, Wei S & Wei Q (2009) Vitamin D receptor genetic polymorphisms and prostate cancer risk: a meta-analysis of 36 published studies. *Int J Clin Exp Med* **2**, 159–175.
- Gilbert R, Bonilla C, Metcalfe C, *et al.* (2015) Associations of vitamin D pathway genes with circulating 25-hydroxyvitamin-D, 1,25-dihydroxyvitamin-D, and prostate cancer: a nested case-control study. *Cancer Causes Control* **26**, 205–218.
- Mondul AM, Shui IM, Yu K, *et al.* (2013) Genetic variation in the vitamin D pathway in relation to risk of prostate cancer – results from the breast and prostate cancer cohort consortium. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* **22**, 688–696.
- Shui IM, Mucci LA, Wilson KM, *et al.* (2013) Common genetic variation of the calcium-sensing receptor and lethal prostate cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* **22**, 118–126.
- Holt SK, Kwon EM, Koopmeiners JS, *et al.* (2010) Vitamin D pathway gene variants and prostate cancer prognosis. *Prostate* **70**, 1448–1460.
- Herberg S, Preziosi P, Briancon S, *et al.* (1998) A primary prevention trial using nutritional doses of antioxidant vitamins and minerals in cardiovascular diseases and cancers in a general population: the SU.VI.MAX study – design, methods, and participant characteristics. Supplementation en Vitamines et Minéraux Antioxydants. *Control Clin Trials* **19**, 336–351.
- World Health Organization (2010) *ICD-10, International Classification of Diseases and Related Health Problems*, 10th rev. ed. Geneva: WHO.

19. Le Moullec N, Deheeger M, Preziosi P, *et al.* (1996) Validation du manuel photo utilisé pour l'enquête alimentaire de l'étude SU.VI.MAX (Validation of the food portion size booklet used in the SU.VI.MAX study). *Cab Nutr Diet* **31**, 158–164.
20. Herdberg S (2005) *Table de composition SU.VI.MAX des aliments (SU.VI.MAX Food Composition Table)*. Paris: Les éditions INSERM/Economica.
21. Touvier M, Deschasaux M, Montourcy M, *et al.* (2015) Determinants of vitamin D status in Caucasian adults: influence of sun exposure, dietary intake, socio-demographic, lifestyle, anthropometric and genetic factors. *J Invest Dermatol* **135**, 378–388.
22. Touvier M, Deschasaux M, Montourcy M, *et al.* (2014) Interpretation of plasma PTH concentrations according to 25OHD status, gender, age, weight status, and calcium intake: importance of the reference values. *J Clin Endocrinol Metab* **99**, 1196–1203.
23. Knudsen CS, Nexø E, Hojkskov CS, *et al.* (2012) Analytical validation of the Roche 25-OH Vitamin D total assay. *Clin Chem Lab Med* **50**, 1965–1968.
24. Rakel A, Brossard JH, Patenaude JV, *et al.* (2005) Overproduction of an amino-terminal form of PTH distinct from human PTH(1-84) in a case of severe primary hyperparathyroidism: influence of medical treatment and surgery. *Clin Endocrinol (Oxf)* **62**, 721–727.
25. Willett WC, Howe GR & Kushi LH (1997) Adjustment for total energy intake in epidemiologic studies. *Am J Clin Nutr* **65**, 1220S–1228S.
26. Institute of Medicine (2011) *Dietary Reference Intakes for Calcium and Vitamin D*. Washington, DC: The National Academies Press.
27. Xu Y, Shao X, Yao Y, *et al.* (2014) Positive association between circulating 25-hydroxyvitamin D levels and prostate cancer risk: new findings from an updated meta-analysis. *J Cancer Res Clin Oncol* **140**, 1465–1477.
28. Tuohimaa P, Tenkanen I, Ahonen M, *et al.* (2004) Both high and low levels of blood vitamin D are associated with a higher prostate cancer risk: a longitudinal, nested case-control study in the Nordic countries. *Int J Cancer* **108**, 104–108.
29. Kristal AR, Till C, Song X, *et al.* (2014) Plasma vitamin D and prostate cancer risk: results from the Selenium and Vitamin E Cancer Prevention Trial. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* **23**, 1494–1504.
30. Meyer HE, Røsbjerg TE, Bjørge T, *et al.* (2013) Vitamin D, season, and risk of prostate cancer: a nested case-control study within Norwegian health studies. *Am J Clin Nutr* **97**, 147–154.
31. Skrabby T, Husemoen LL, Thuesen BH, *et al.* (2014) Prospective population-based study of the association between serum 25-hydroxyvitamin-D levels and the incidence of specific types of cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* **23**, 1220–1229.
32. Park SY, Murphy SP, Wilkens LR, *et al.* (2007) Calcium, vitamin D, and dairy product intake and prostate cancer risk: the Multiethnic Cohort Study. *Am J Epidemiol* **166**, 1259–1269.
33. Li H, Stampfer MJ, Hollis JB, *et al.* (2007) A prospective study of plasma vitamin D metabolites, vitamin D receptor polymorphisms, and prostate cancer. *PLoS Med* **4**, e103.
34. Albanes D, Mondul AM, Yu K, *et al.* (2011) Serum 25-hydroxy vitamin D and prostate cancer risk in a large nested case-control study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* **20**, 1850–1860.
35. Vieth R (2009) How to optimize vitamin D supplementation to prevent cancer, based on cellular adaptation and hydroxylase enzymology. *Anticancer Res* **29**, 3675–3684.
36. Vemay M, Sponga M, Salavane B, *et al.* (2012) Statut en vitamine D de la population adulte en France: l'Etude nationale nutrition santé (ENNS 2006-2007) (Vitamin D status in the French adult population: the French Nutrition and Health Survey (ENNS, 2006–2007)). *Bulletin Épidémiologique Hebdomadaire (BEH) (Bull Epidemiol Hebd)* **16–17**, 189–194.
37. Major JM, Graubard BI, Dodd KW, *et al.* (2013) Variability and reproducibility of circulating vitamin D in a nationwide U.S. population. *J Clin Endocrinol Metab* **98**, 97–104.
38. Holick MF (2007) Vitamin D deficiency. *N Engl J Med* **357**, 266–281.
39. Saquib N, von MD, Garland CF, *et al.* (2006) Serum 25-hydroxyvitamin D, parathyroid hormone, and bone mineral density in men: the Rancho Bernardo study. *Osteoporos Int* **17**, 1734–1741.
40. Fedirko V, Riboli E, Bueno-de-Mesquita HB, *et al.* (2011) Prediagnostic circulating parathyroid hormone concentration and colorectal cancer in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition cohort. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* **20**, 767–778.
41. McCarty MF (2000) Parathyroid hormone may be a cancer promoter – an explanation for the decrease in cancer risk associated with ultraviolet light, calcium, and vitamin D. *Med Hypotheses* **54**, 475–482.
42. Ritchie CK, Thomas KG, Andrews LR, *et al.* (1997) Effects of the calcitropic peptides calcitonin and parathyroid hormone on prostate cancer growth and chemotaxis. *Prostate* **30**, 183–187.
43. Bikle DD (2008) Growth hormone/insulin-like growth factor-1/PTH axis in bone. *J Bone Miner Res* **23**, 581–583.
44. Gasperi M, Ceconi E, Grasso L, *et al.* (2002) GH secretion is impaired in patients with primary hyperparathyroidism. *J Clin Endocrinol Metab* **87**, 1961–1964.
45. Price AJ, Allen NE, Appleby PN, *et al.* (2012) Insulin-like growth factor-I concentration and risk of prostate cancer: results from the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* **21**, 1531–1541.
46. Roddam AW, Allen NE, Appleby P, *et al.* (2008) Insulin-like growth factors, their binding proteins, and prostate cancer risk: analysis of individual patient data from 12 prospective studies. *Ann Intern Med* **149**, 461–468.
47. Jorde R, Sundsfjord J & Boraa KH (2001) Determinants of serum calcium in men and women. The Tromsø Study. *Eur J Epidemiol* **17**, 1117–1123.



Prospective associations between vitamin D status, vitamin D-related gene polymorphisms, and risk of tobacco-related cancers^{1,2}

Mélanie Deschasaux,^{3*} Jean-Claude Souberbielle,⁴ Paule Latino-Martel,³ Angela Sutton,⁵ Nathalie Charnaux,⁵ Nathalie Druesne-Pecollo,³ Pilar Galan,³ Serge Hercberg,^{3,6} Sigrid Le Clerc,⁷ Emmanuelle Kesse-Guyot,³ Khaled Ezzedine,^{3,8} and Mathilde Touvier³

³Paris 13 University, Nutritional Epidemiology Research Team, French National Institute of Health and Medical Research (Inserm) U1153, French National Institute for Agricultural Research (Inra) U1125, French National Conservatory of Arts and Crafts (CNAM), Sorbonne Paris Cité University, Bobigny, France; ⁴Physiology Department, Necker Hospital, Inserm U845, Paris, France; ⁵Biochemistry Department, Jean Verdier Hospital, Inserm U698, Paris 13 University, Bondy, France; ⁶Public Health Department, Avicenne Hospital, Bobigny, France; ⁷CNAM, Genomics, Bioinformatics and Applications Team (EA4627), Paris, France; and ⁸Dermatology Department, Saint André Hospital, Bordeaux, France

ABSTRACT

Background: Experimental evidence has suggested that vitamin D may be protective against tobacco-related cancers through the inhibition of the formation of tumors induced by tobacco carcinogens. To our knowledge, only one previous epidemiologic study investigated the association between vitamin D status and tobacco-related cancer risk, and no study has focused on vitamin D-related gene polymorphisms.

Objective: Our objective was to prospectively study the association between plasma 25-hydroxyvitamin D [25(OH)D] concentrations, vitamin D-related gene polymorphisms, and risk of tobacco-related cancers.

Design: A total of 209 tobacco-related cancers were diagnosed within the SU.VI.MAX (Supplémentation en vitamines et minéraux antioxydants) cohort (1994–2007) and were matched with 418 controls as part of a nested case-control study. Tobacco-related cancers (i.e., cancers for which tobacco is one of the risk factors) included several sites in the respiratory, digestive, reproductive, and urinary systems. Total plasma 25(OH)D was assessed with the use of an electrochemoluminescent assay. Polymorphisms were determined with the use of a TaqMan assay. Conditional logistic regression models were computed.

Results: A 25(OH)D concentration ≥ 30 ng/mL was associated with reduced risk of tobacco-related cancers (OR for ≥ 30 compared with < 30 ng/mL: 0.59; 95% CI 0.35, 0.99; $P = 0.046$). This association was observed in former and current smokers (OR for ≥ 30 compared with < 30 ng/mL: 0.43; 95% CI: 0.23, 0.84; $P = 0.01$) but not in never smokers ($P = 0.8$). The vitamin D receptor (*VDR*) *FokI* AA genotype and retinoid X receptor (*RXR*) rs7861779 TT genotype were associated with increased risk of tobacco-related cancers [OR for homozygous mutant type (MT) compared with wild type (WT): 1.87; 95% CI: 1.08, 3.23; P -trend = 0.02; OR for heterozygous type (HT) plus MT compared with WT: 1.60; 95% CI: 1.07, 2.38; $P = 0.02$].

Conclusions: In this prospective study, high vitamin D status [25(OH)D concentration ≥ 30 ng/mL] was associated with decreased risk of tobacco-related cancers, especially in smokers. These results, which are supported by mechanistic plausibility, suggest that vitamin D may contribute to the prevention of tobacco-induced cancers in smokers and deserve additional investigation. The SU.VI.MAX trial was registered at clinicaltrials.gov as NCT00272428. *Am J Clin Nutr* 2015;102:1207–15.

Keywords: nested case-control study, single nucleotide polymorphisms, smoking status, tobacco-related cancers, 25-hydroxyvitamin D

INTRODUCTION

Tobacco-smoking is a major risk factor for several cancers (in particular, respiratory, digestive, and urinary cancers) because of many carcinogens released during cigarette combustion (1). Experimental studies have suggested that vitamin D could be beneficial in cancer prevention through several cell regulation properties (e.g., antiproliferation, pro-apoptosis, and growth control) (2) and, especially in tobacco-related cancers, through its ability to inhibit the formation of chemically induced tumors that result from exposure to tobacco carcinogens (3–6).

Because tobacco-related cancers [i.e., cancers for which tobacco is one of the risk factors (7)] are supposed to share a common cause linked to tobacco smoking, and because vitamin D may be protective against smoking carcinogens, it is relevant to consider tobacco-related cancers as a single outcome when studying their association with vitamin D (8). To our knowledge, only one prospective study has previously investigated the association between vitamin D status (25-hydroxyvitamin D [25(OH)D]⁹ plasma concentration) and risk of tobacco-related

¹Supported by the French Research Institute for Public Health (grant AAR201206). MD was funded by a PhD grant from the Cancéropôle Ile-de-France (public funding from the Paris region).

²The funders had no role in the design, implementation, analysis, or interpretation of the data.

*To whom correspondence should be addressed. E-mail: m.deschasaux@eren.smbh.univ-paris13.fr.

⁹Abbreviations used: *CaSR*, calcium-sensing receptor; CYP24A1, 1,25-dihydroxyvitamin D₃ 24-hydroxylase; GC, vitamin D binding protein; HT, heterozygous type; MAF, minor allele frequency; MT, homozygous mutant type; *RXR*, retinoid X receptor; SNP, single nucleotide polymorphism; SU.VI.MAX, Supplémentation en vitamines et minéraux antioxydants; *VDR*, vitamin D receptor; WT, wild type; 25(OH)D, 25-hydroxyvitamin D.

Received March 2, 2015. Accepted for publication September 9, 2015.

First published online October 7, 2015; doi: 10.3945/ajcn.115.110510.



cancers; the study observed increased risk associated with a low 25(OH)D concentration (8). When tobacco-related cancer sites have been considered separately, current epidemiologic evidence has supported a protective role of vitamin D in colorectal carcinogenesis as expressed in 2008 by the International Agency for Research on Cancer in its report on vitamin D and cancer (9) and as observed in recent meta-analyses (10, 11). Literature that has dealt with other tobacco-related cancer sites individually (such as of the lung, bladder, esophagus, stomach, pharynx and larynx, liver, kidneys, and pancreas) has been scarce and inconsistent (12–20). However, for several of these cancer sites, previous studies have suggested a more-pronounced protective effect of vitamin D in smokers (8, 15, 21, 22).

Polymorphisms of genes involved in vitamin D metabolism [in particular, those for signaling [vitamin D receptor (*VDR*) and retinoid X receptor (*RXR*), transportation vitamin D binding protein (*GC*), degradation 1,25-dihydroxyvitamin D3 24-hydroxylase (*CYP24A1*), and calcium metabolism calcium-sensing receptor (*CaSR*)] may also be involved in carcinogenesis through a potential influence on vitamin D activity. To our knowledge, no previous study investigated the association between polymorphisms of these genes and tobacco-related cancers as the overall outcome. Studies have been performed on specific sites with inconsistent results that mainly focused on colorectal cancer risk and *VDR* polymorphisms (11, 23), suggesting inverse associations with *VDR BsmI* (B allele compared with b) and *VDR Cdx2* (c allele compared with C). Evidence for other tobacco-related cancer sites or other gene polymorphisms has been sparse (21, 24–29).

Thus, our objective was to study the association between plasma 25(OH)D concentrations, 10 single nucleotide polymorphism (SNPs) of genes involved in vitamin D metabolism (*VDR BsmI*, *FokI*, and *Cdx2*, *CYP24A1* rs4809958, *GC* rs4588 and rs7041, *RXR* rs7861779 and rs12004589, and *CaSR* rs1801725 and rs4678174), and risk of tobacco-related cancers.

METHODS

Subjects

The SU.VIMAX (Supplémentation en vitamines et minéraux antioxydants) study (clinicaltrials.gov; NCT00272428) was initially designed as a double-blind placebo-controlled trial with the purpose to assess the influence of a daily supplementation with nutritional doses of antioxidants (a daily capsule of a combination of 120 mg ascorbic acid, 30 mg vitamin E, 6 mg β carotene, 100 μ g Se, and 20 mg Zn) on the incidence of cardiovascular diseases and cancers (30, 31). A total of 13,017 participants were enrolled in 1994–1995 for an 8-y intervention trial and were followed up for health events until September 2007. All subjects gave their written informed consent to participate in the study. Vitamin D was not part of the trial supplementation, and participants were advised against taking any self-prescribed supplements (vitamin D or others) during the trial. The study was conducted according to the Declaration of Helsinki guidelines and was approved by the Ethics Committee for Studies with Human Subjects of Paris-Cochin Hospital (CCPPRB 706/2364) and the 'Commission Nationale de l'Informatique et des Libertés' (334641/907094).

Case ascertainment

Health events were self-reported by the participants. All relevant medical information and pathologic reports were gathered through participants, physicians, and hospitals and reviewed for validation by an independent physician expert committee. Validated cancer cases were classified according to the International Chronic Diseases Classification, 10th Revision, Clinical Modification (32). All first-incident primary tobacco-related cancers were considered as cases in this study. Tobacco-related cancers included all of the following cancer sites for which an association with tobacco smoking has been established with sufficient evidence according to the International Agency for Research on Cancer (7): the lung, oral cavity, pharynx, larynx, esophagus, pancreas, urinary bladder, ureter, kidney, nasal sinuses, stomach, liver, uterine cervix, ovary, myeloid leukemia, colon-rectum, and anus.

Nested case-control study

All participants who were diagnosed with a tobacco-related cancer during follow-up (1994–2007; i.e., 13 y of follow-up) were included in a nested case-control study whereby 2 control subjects per tobacco-related cancer case were randomly selected in cancer-free subjects and were matched according to the following baseline criteria: sex (female or male), age (<40, 40–44, 45–49, 50–54, or 55–65 y), intervention group of the initial SU.VIMAX trial (placebo or supplemented), season of blood draw (June through October or November through May), and, for women, menopausal status (premenopause or postmenopause) and use of hormonal treatment of menopause (yes or no).

Baseline data collection

Self-administered questionnaires were used at baseline to get information on sociodemographics, physical activity, medication use, health status, and smoking habits.

Participants underwent a clinical examination by the study nurses and physicians with anthropometric measurements and a blood draw that occurred in the early morning after an overnight (12-h) fasting period. Thirty-five-milliliter venous blood samples were collected in evacuated tubes and immediately centrifuged to get plasma aliquots (preserved in sodium heparin) and buffy-coat fractions, thereby allowing for future DNA extraction. Both aliquots and fractions were stored frozen in liquid nitrogen. Dietary intakes were collected with the use of repeated 24h-dietary records that were completed through the Minitel Telematic Network, which is a French telephone-based terminal that is equivalent to an Internet prototype. Portion sizes were assessed with the use of a validated picture booklet (33), and the amounts consumed from composite dishes were estimated with the use of French recipes that were validated by food and nutrition professionals. Mean daily energy, alcohol, and nutrient intakes were estimated with the use of a published French food-composition table (34).

Laboratory assay of plasma 25(OH)D concentration

The 25(OH)D plasma concentration was determined on baseline samples as previously described in detail (35, 36). The plasma 25(OH)D concentration was measured with the use of the

Roche Cobas electrochemoluminescent total 25(OH)D assay (Roche Diagnostics), which is based on the principle of competitive binding (37). The interassay CV was <10% [8 samples of various 25(OH)D concentrations tested in 42 separate runs], whereas the intra-assay CV was <6.6% (the same 8 samples tested 21 times in the same run).

Genotyping

One to 3 SNPs were selected for each gene of interest (*VDR*, *CYP24A1*, *GC*, *RXR*, and *CASR*) on the basis of two criteria: 1) relatively high frequency in Caucasian populations (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/guide/howto/viewgen-freq/>) and 2) predicted functional effect according to the PUPA database (<http://snpeffect.vib.be> and <http://pupasuite.bioinfo.cipf.es/>). The selected SNPs were as follows: *VDR* rs1544410 [*BsmI*, minor allele frequency (MAF): T, 0.2959], rs2228570/10735810 (*FokI*, MAF: A, 0.3285) and rs11568820 (*Cdx2*, MAF: T, 0.4569), *CYP24A1* rs4809958 (MAF: G, 0.1907), *GC* rs4588 (MAF: T, 0.2079) and rs7041 (MAF: C, 0.3816), *RXR* rs7861779 (MAF: T, 0.2804) and rs12004589 (MAF: T, 0.1304), and *CaSR* rs1801725 (MAF: T, 0.0942) and rs4678174 (MAF: C, 0.4619). Genomic DNA was extracted from each patient's mononuclear cells in peripheral blood with the use of a MagNA Pure Compact Instrument with magnetic-bead technology for the isolation process (Roche Diagnostics). Genetic polymorphisms were assessed by allelic discrimination with the use of fluorogenic probes and the 5' nuclease (TaqMan) assay (Applied Biosystems). Quality control of genotyping was carried out for each SNP by investigating any departure from the Hardy-Weinberg equilibrium and comparing observed distributions to those of European reference populations [CSHL-HapMap-CEU and 1000GENOMES-phase_1_EUR (<http://www.ensembl.org/>)] with the use of chi-square tests.

Statistical analyses

Baseline characteristics were compared between tobacco-related cancer cases and controls with the use of chi-square tests for categorical variables or Fisher tests (from ANOVA models) for continuous variables.

Associations between the plasma 25(OH)D concentration, dietary vitamin D intake, studied SNPs, and tobacco-related cancer risk were characterized by ORs and 95% CIs that were derived from multivariate logistic regressions. All models were conditional except for stratified analyses and SNPs analyses. Participants were matched for sex, age at baseline, intervention group of the initial SU.VI.MAX trial, season of blood draw, menopausal status (women), and use of hormonal treatment of menopause (women), and models were further adjusted for educational level, physical activity, alcohol intake, smoking status, height, BMI, and family history of cancer. SNPs models were also adjusted for 25(OH)D concentrations. Sensitivity analyses were carried out by further adjusting for energy intake (without alcohol) or for professional categories. For all models that involved dietary intake data, only subjects who provided ≥ 3 valid 24-h dietary records were included. Dietary vitamin D intake was treated as an energy-adjusted variable with the use of the residual method (38).

The plasma 25(OH)D concentration was coded as ≥ 30 and < 30 ng/mL. These cutoffs correspond to the threshold values that are used to define vitamin D insufficiency and sufficiency, respectively, according to the official recommendations of the US Endocrine Society (39). Therefore, individuals with a 25(OH)D concentration ≥ 30 ng/mL may be considered as having "optimal vitamin D status." Subjects were classified into 5 categories according to their baseline smoking status as follows: never smokers, former smokers with past cigarette consumption ≤ 10 or > 10 cigarettes/d, and current smokers with cigarette consumption ≤ 10 or > 10 cigarettes/d. A combined variable of vitamin D status (< 30 and ≥ 30 ng/mL) and smoking status (never smokers and ever smokers) was also computed. A test for a linear trend was performed across the 4 categories with the use of the ordinal value of this combined variable [1) 25(OH)D concentration < 30 ng/mL and ever smokers; 2) 25(OH)D concentration ≥ 30 ng/mL and ever smokers, 3) 25(OH)D concentration < 30 ng/mL and never smokers; and 4) 25(OH)D concentration ≥ 30 ng/mL and never smokers]. For each SNP, the following codings were tested: codominant [heterozygous type (HT) compared with wild type (WT) and homozygous mutant type (MT) compared with WT], dominant (HT and MT compared with WT), and recessive (MT compared with WT and HT).

Two-way interactions were tested between the 25(OH)D concentration, the 10 SNPs, and smoking status, and stratified analyses were performed when appropriate. All statistical tests were 2 sided, and $P < 0.05$ was considered significant. A power analysis was performed with the use of PS Power and Sample Size calculator (version 3.0) (40). Analyses were performed with the use of SAS software (version 9.3; SAS Institute).

RESULTS

During the 13 y of follow-up (1994-2007), the 209 tobacco-related cancer cases of the following sites were diagnosed within the SU.VI.MAX cohort: lung ($n = 32$), oral cavity ($n = 9$), pharynx ($n = 2$), larynx ($n = 6$), esophagus ($n = 9$), pancreas ($n = 14$), urinary bladder ($n = 12$), ureter ($n = 1$), kidney ($n = 15$), nasal sinuses ($n = 2$), stomach ($n = 4$), liver ($n = 4$), uterine cervix ($n = 24$), ovary ($n = 15$), myeloid leukemia ($n = 4$), colon-rectum ($n = 52$), and anus ($n = 4$). A total of 418 controls were randomly selected and matched with the cases. The mean age at diagnosis was 57.7 y, and the mean baseline-to-diagnosis time was 6.3 y. With 209 cancer cases and 2 matched controls per case, a type I error probability of 0.05, and a power of 0.8, we were able to detect ORs ≤ 0.6 or ≥ 1.4 .

Table 1 summarizes the baseline characteristics of tobacco-related cancer cases and controls. Compared with controls, cases were more likely to smoke, be obese, have lower intakes of dietary vitamin D, and possess the T allele (CT and TT genotypes) of the *RXR* rs7861779 polymorphism. All studied SNPs respected the Hardy-Weinberg equilibrium ($P > 0.05$). The repartition of subjects across the different genotypes was in accordance with that observed in European reference populations (CSHL-HapMap-CEU and 1000GENOMES-phase_1_EUR) for all SNPs ($P > 0.05$).

A 25(OH)D concentration ≥ 30 ng/mL was associated with reduced risk of tobacco-related cancers (OR for ≥ 30 compared with < 30 ng/mL: 0.59; 95% CI: 0.35, 0.99; $P = 0.046$) (**Table 2**). This association was observed for subjects who have ever



TABLE 1
Baseline characteristics of tobacco-related cancers and controls (SU.VI.MAX cohort, France; 1994–2007)¹

	Tobacco-related cancer cases (n = 209)		Controls (n = 418)		P
	n (%)	Mean ± SD	n (%)	Mean ± SD	
Age, y	—	51.4 ± 6.2	—	51.2 ± 6.4	0.6
Sex					1
Men	106 (50.7)	—	212 (50.7)	—	
Women	103 (49.3)	—	206 (49.3)	—	
BMI, kg/m ²	—	24.7 ± 4.2	—	24.2 ± 3.4	0.09
<18.5 (underweight)	8 (3.8)	—	8 (1.9)	—	0.02
≥18.5 to <25 (normal weight)	113 (54.1)	—	257 (61.5)	—	
≥25 to <30 (overweight)	64 (30.6)	—	130 (31.1)	—	
≥30 (obese)	24 (11.5)	—	23 (5.5)	—	
Height, cm	—	167.9 ± 8.0	—	167.4 ± 8.4	0.5
Intervention group					1
Antioxidants	105 (50.2)	—	210 (50.2)	—	
Placebo	104 (49.8)	—	208 (49.8)	—	
Smoking status, cigarettes/d					<0.0001
Never	73 (34.9)	—	193 (46.2)	—	
Former, ≤10	29 (13.9)	—	61 (14.6)	—	
Former, >10	54 (25.8)	—	114 (27.3)	—	
Current, ≤10	15 (7.2)	—	31 (7.4)	—	
Current, >10	38 (18.2)	—	19 (4.5)	—	
Physical activity					0.5
Irregular	45 (21.5)	—	108 (25.8)	—	
<1-h/d walking equivalent	67 (32.1)	—	121 (29.0)	—	
≥1-h/d walking equivalent	97 (46.4)	—	189 (45.2)	—	
Educational level					0.3
Primary	39 (18.7)	—	91 (21.8)	—	
Secondary	90 (43.1)	—	152 (36.3)	—	
Superior	80 (38.3)	—	175 (41.9)	—	
Family history of cancer, ² yes	75 (35.9)	—	155 (37.1)	—	0.8
Alcohol intake, g/d	—	22.6 ± 25.0	—	19.5 ± 20.5	0.09
Energy intake without alcohol, ³ kcal/d	—	1919.5 ± 553.3	—	2019.1 ± 562.7	0.05
Dietary vitamin D intake, ³ μg/d	—	2.6 ± 1.7	—	3.1 ± 2.3	0.03
Plasma 25-hydroxyvitamin D, ng/mL	—	20.4 ± 10.5	—	21.0 ± 11.3	0.5
Month of blood draw					0.8
October through November	40 (19.1)	—	79 (18.9)	—	
December through January	59 (28.2)	—	134 (32.1)	—	
February through March	84 (40.2)	—	156 (37.3)	—	
April through May	26 (12.5)	—	49 (11.7)	—	
VDR <i>Bsm1</i> rs1544410					0.2
C/C (WT)	69 (36.3)	—	150 (38.2)	—	
C/T (HT)	96 (50.5)	—	171 (43.5)	—	
T/T (MT)	25 (13.2)	—	72 (18.3)	—	
VDR <i>FokI</i> rs2228570					0.08
G/G (WT)	69 (32.5)	—	168 (40.9)	—	
A/G (HT)	98 (50.5)	—	193 (46.9)	—	
A/A (MT)	33 (17.0)	—	50 (12.2)	—	
VDR <i>Cdx2</i> rs11568820					0.2
C/C (WT)	108 (55.1)	—	221 (54.8)	—	
C/T (HT)	83 (42.3)	—	159 (39.5)	—	
T/T (MT)	5 (2.6)	—	23 (5.7)	—	
CYP24A1 rs4809958					0.8
G/G (WT)	132 (69.8)	—	285 (70.7)	—	
G/T (HT)	51 (27.0)	—	109 (27.1)	—	
T/T (MT)	6 (3.2)	—	9 (2.2)	—	
GC rs4588					0.5
G/G (WT)	100 (50.2)	—	198 (49.0)	—	
G/T (HT)	77 (38.7)	—	171 (42.3)	—	
T/T (MT)	22 (11.1)	—	35 (8.7)	—	

(Continued)



TABLE 1 (Continued)

	Tobacco-related cancer cases (n = 209)		Controls (n = 418)		P
	n (%)	Mean ± SD	n (%)	Mean ± SD	
GC rs7041					0.5
A/A (WT)	42 (21.2)	—	72 (17.5)	—	—
A/C (HT)	92 (46.5)	—	208 (50.5)	—	—
C/C (MT)	64 (32.3)	—	132 (32.0)	—	—
RXR rs7861779					0.04
C/C (WT)	136 (68.3)	—	307 (77.7)	—	—
C/T (HT)	58 (29.2)	—	82 (20.8)	—	—
T/T (MT)	5 (2.5)	—	6 (1.5)	—	—
RXR rs12004589					0.6
G/G (WT)	149 (76.4)	—	317 (78.7)	—	—
G/T (HT)	45 (23.1)	—	82 (20.3)	—	—
T/T (MT)	1 (0.5)	—	4 (1.0)	—	—
CASR rs1801725					0.8
G/G (WT)	140 (70.7)	—	292 (71.4)	—	—
G/T (HT)	53 (26.8)	—	103 (25.2)	—	—
T/T (MT)	5 (2.5)	—	14 (3.4)	—	—
CASR rs4678174					0.3
T/T (WT)	98 (51.3)	—	184 (46.4)	—	—
C/T (HT)	81 (42.4)	—	174 (43.8)	—	—
C/C (MT)	12 (6.3)	—	39 (9.8)	—	—

¹Tobacco-related cancer sites were as follows: lung, oral cavity, pharynx, larynx, esophagus, pancreas, urinary bladder, ureter, kidney, nasal sinuses, stomach, liver, uterine cervix, ovary, myeloid leukemia, colon-rectum, and anus. Missing data were as follows: $n = 44$ for rs1544410, $n = 22$ for rs2228570, $n = 28$ for rs11568820, $n = 35$ for rs4809958, $n = 24$ for rs4588, $n = 17$ for rs7041, $n = 33$ for rs7861779, $n = 29$ for rs12004589, $n = 20$ for rs1801725, and $n = 39$ for rs4678174. CASR, calcium-sensing receptor; CYP24A1, 1,25-dihydroxyvitamin D3 24-hydroxylase; GC, vitamin D binding protein; HT, heterozygous type; MT, homozygous mutant type; RXR, retinoid X receptor; SU.VI.MAX, Supplémentation en vitamines et minéraux antioxydants; VDR, vitamin D receptor; WT, wild type.

²In first-degree relatives.

³Dietary intakes from 24-h dietary records during the first 2 y of follow-up; data were available for 418 controls and 168 cases.

smoked (former or current smokers) (OR for ≥ 30 compared with < 30 ng/mL: 0.43; 95% CI: 0.23, 0.84; $P = 0.01$) but not in never smokers (OR for ≥ 30 compared with < 30 ng/mL: 1.01; 95% CI: 0.50, 2.42; $P = 0.8$). However, the P -interaction between 25 (OH)D and smoking was NS (P -interaction = 0.2).

Similar results were obtained when we excluded colorectal cancer cases ($n = 52$), which represented 24.9% of all tobacco-related cancer cases in the study, although the P value did not reach significance because of a loss of statistical power [ORs for ≥ 30 compared with < 30 ng/mL: overall, 0.56 (95% CI: 0.30, 1.05; $P = 0.07$); for ever smokers, 0.48 (95% CI: 0.23, 1.00; $P = 0.05$); and for never smokers, $P = 0.6$ (data not tabulated)]. Results were also similar when we adjusted for energy intake or for professional categories (data not shown).

Stratified analyses on the average baseline-to-diagnosis time (< 6 and ≥ 6 y) were performed. Similar trends were observed for cancer cases diagnosed < 6 and ≥ 6 y after baseline although the trends were NS or were borderline significant because of restricted statistical power (ORs for ≥ 30 compared with < 30 ng/mL—baseline-to-diagnosis time < 6 y: overall (102 cases and 204 controls), 0.58 (95% CI: 0.27, 1.22; $P = 0.1$) and in ever smokers (70 cases and 113 controls), 0.49 (95% CI: 0.19, 1.25; $P = 0.1$); baseline-to-diagnosis time ≥ 6 y: overall (107 cases and 214 controls), 0.67 (95% CI: 0.31, 1.45; $P = 0.3$) and in ever smokers (66 cases and 112 controls), 0.35 (95% CI: 0.13, 0.94; $P = 0.04$).

With the use of a combined variable of vitamin D status and smoking status, we observed that, compared with smokers with 25 (OH)D concentration < 30 ng/mL (reference), lowest risk of tobacco-related cancer was observed for never smokers with 25(OH)D concentrations ≥ 30 ng/mL (OR: 0.13; 95% CI: 0.05, 0.35), with an overall P -trend = 0.046 across the 4 categories (data not tabulated). This result was similar after the exclusion of colorectal cancers (OR: 0.09; 95% CI: 0.03, 0.29; P -trend = 0.07).

No association was observed between dietary vitamin D intake and risk of tobacco-related cancers [143 cases and 286 controls; OR for Quartile 4 compared with Quartile 1: 0.84; 95% CI: 0.46, 1.51; P -trend = 0.8 (data not tabulated)].

Associations between the 10 studied SNPs and risk of tobacco-related cancers are presented in Table 3. The genotype AA of the VDR FokI polymorphism was associated with increased risk of tobacco-related cancers (OR for MT compared with WT = 1.87; 95% CI: 1.08, 3.23; P -trend = 0.02) as was the genotype TT of RXR rs7861779 (OR for HT plus MT compared with WT: 1.60; 95% CI: 1.07, 2.38; $P = 0.02$). No association was observed for the other studied SNPs. Similar results were obtained when colorectal cancer cases were excluded [VDR FokI: OR for MT compared with WT, 1.99 (95% CI: 1.04, 3.83; P -trend = 0.02); RXR rs7861779: OR for HT plus MT compared with WT, 1.64 (95% CI: 1.02, 2.64; $P = 0.04$)]. No 2-way interaction was detected between the SNPs and the 25(OH)D concentration or smoking status.



TABLE 2

Associations between 25(OH)D concentrations and risk of tobacco-related cancers from logistic regression models overall and according to smoking status (SU.VI.MAX cohort, France; 1994–2007)¹

	25(OH)D, ng/mL		P
	<30	≥30	
All			
Cases/controls, n	182/335	27/83	—
OR (95% CI)	1.00	0.59 (0.35, 0.99)	0.046
Never smoker ²			
Cases/controls, n	62/163	11/30	—
OR (95% CI)	1.00	1.10 (0.50, 2.42)	0.8
Ever smoker (former and current) ²			
Cases/controls, n	120/172	16/53	—
OR (95% CI)	1.00	0.43 (0.23, 0.84)	0.01

¹Tobacco-related cancer sites were as follows: lung, oral cavity, pharynx, larynx, esophagus, pancreas, urinary bladder, ureter, kidney, nasal sinuses, stomach, liver, uterine cervix, ovary, myeloid leukemia, colon-rectum, and anus. Participants were matched for sex, age at baseline, intervention group of the initial SU.VI.MAX trial, season of blood draw, menopausal status, and use of hormonal treatment of menopause, and models were further adjusted for educational level (primary, secondary, and superior), physical activity (irregular, <1-h/d walking equivalent, and ≥1-h/d walking equivalent), alcohol intake (continuous; in g/d), smoking status (never; former, ≤10 cigarettes/d; former, >10 cigarettes/d; current, ≤10 cigarettes/d; and current, >10 cigarettes/d), height (continuous; in cm), BMI (continuous; in kg/m²), and family history of overall cancer (yes or no). SU.VI.MAX, Supplémentation en vitamines et minéraux antioxydants; 25(OH)D, 25-hydroxyvitamin D.

²P-interaction = 0.2 between 25(OH)D plasma concentration and smoking status (never or ever).

DISCUSSION

In this nested case-control study, higher vitamin D status [25(OH)D concentration ≥30ng/mL] was inversely associated with risk of tobacco-related cancers, particularly in smokers. Two polymorphisms of genes involved in vitamin D metabolism (*VDR FokI* A allele and *RXR* rs7861779 T allele) were positively associated with tobacco-related cancer risk.

To our knowledge, only one recent prospective study investigated a possible association between vitamin D status and tobacco-related cancer risk (8). Its results were in line with ours (i.e., increased risk associated with low vitamin D status, especially in smokers). Our results were also consistent with several studies on tobacco-related cancer sites considered separately that showed an inverse association with vitamin D status that was modulated by smoking status (15, 22). Zheng et al. (22) observed reduced risk of colorectal adenoma with vitamin D status that was only significant for active smokers. Consistently, Amaral et al. (15) observed increased bladder cancer risk associated with low vitamin D status in smokers only.

These results suggest that vitamin D could contribute to the prevention of tobacco-related cancers, which is supported by experimental data. Smoking is a known risk factor for many cancers because of released carcinogens (1). Several experimental studies have shown that vitamin D may be involved in the prevention of chemically induced tumors and tumors that are induced by tobacco carcinogens in particular (3–6). Indeed, vitamin D is supposed to enhance apoptosis, thereby suppressing cells that are damaged because of carcinogens

and limiting tumor progression (2, 41), to be a factor of detoxification (42), and to reduce the susceptibility to carcinogens (41).

From a public health standpoint, our results on the combined 25(OH)D concentration–smoking status variable indicated that tobacco-related cancer risk was maximal in smokers, especially if their vitamin D status was <30 ng/mL, and was minimal in nonsmokers with vitamin D status ≥30 ng/mL. To the best of our knowledge, our study is the first one to investigate the relation between several SNPs of genes involved in vitamin D metabolism and tobacco-related cancer risk.

Epidemiologic evidence regarding the association between *VDR FokI* polymorphisms and separate cancer sites has been inconsistent. In our study, we observed increased risk of tobacco-related cancers with the A (F) allele [compared with the G (F) allele], which was consistent with some studies that observed a direct association between the f allele and increased risk of colon (43) or liver cancer in patients with hepatitis B (25), whereas other studies showed decreased risk of head and neck cancer (44) or lung cancer (45) with this same allele or no association with colorectal cancer (11, 23), renal cell carcinoma (24), or bladder cancer (29). Experimental studies have provided support for our results because they suggested that the f allele produces a longer form of the *VDR* protein, which leads to a less-effective interaction of this receptor with transcription factors and results in a less-effective activity of vitamin D (46, 47). This less-effective activity of vitamin D is consistent with increased risk of tobacco-related cancers when the potentially protective effect of vitamin D that has been suggested for these cancers is considered.

Very limited information exists regarding the SNP *RXR* rs7861779 for which a positive association was observed between the T allele and tobacco-related cancer risk in our analyses. One previous epidemiologic study observed increased risk of proximal colon cancer that was associated with this same allele (27). *RXR* forms a heterodimer with *VDR* that enables the latter to interact with target genes (2). It may be hypothesized that the T allele of *RXR* rs7861779 results in a less-effective *RXR-VDR* dimer, which hinders a proper vitamin D action in cancer prevention.

There was no association observed with the other studied SNPs. The literature regarding these SNPs and separate tobacco-related cancer sites has been uneven and inconsistent; most studies dealt with *VDR BsmI* or *Cdx2*, especially as they relate to risk of colorectal cancer for which an inverse association has been observed with the B allele and a direct association with the C allele, respectively (11, 23). Few studies have investigated these SNPs of *VDR* with other cancer such as head and neck cancer (null result) (26), lung cancer (decreased risk with the A allele) (21), or renal cancer (null result) (24), and even fewer studies have investigated other gene polymorphisms such as *GC* rs4588, *GC* rs7041, *CaSR* rs4678174, and *CaSR* rs1801725, and, again, most of these studies investigated these polymorphisms in association with colorectal cancer risk and observed null results (27, 28, 48, 49).

Strengths of our study pertained to its prospective design and a well-characterized population with available plasma 25(OH)D concentrations and genotypes for 10 vitamin D–related SNPs. However, some limitations should be acknowledged. First, although the number of cases was sufficient to perform analyses



TABLE 3

Associations between single nucleotide polymorphisms of genes involved in vitamin D metabolism and risk of tobacco-related cancers, from logistic regression (SU.VLMAX cohort, France; 1994–2007)¹

	Codominant				Dominant			Recessive		
	WT	HT	MT	<i>P</i> -trend	WT	HT + MT	<i>P</i>	WT + HT	MT	<i>P</i>
<i>VDR BsmI</i> rs1544410										
Cases/controls, <i>n</i>	69/150	96/171	25/72	—	69/150	121/243	—	165/321	25/72	—
OR (95% CI)	1.00	1.15 (0.77, 1.70)	0.73 (0.42, 1.27)	0.5	1.00	1.02 (0.71, 1.49)	0.9	1.00	0.67 (0.40, 1.12)	0.1
<i>VDR FokI</i> rs2228570										
Cases/controls, <i>n</i>	63/168	98/193	33/50	—	63/168	131/243	—	161/361	33/50	—
OR (95% CI)	1.00	1.42 (0.96, 2.10)	1.87 (1.08, 3.23)	0.02	1.00	1.51 (1.04, 2.19)	0.03	1.00	1.53 (0.93, 2.51)	0.09
<i>VDR Gdx2</i> rs11568820										
Cases/controls, <i>n</i>	108/221	83/159	5/23	—	108/221	88/182	—	191/380	5/23	—
OR (95% CI)	1.00	1.04 (0.72, 1.50)	0.46 (0.16, 1.28)	0.5	1.00	0.97 (0.68, 1.38)	0.9	1.00	0.45 (0.16, 1.24)	0.1
<i>CYP24A1</i> rs4809958										
Cases/controls, <i>n</i>	132/285	51/109	6/9	—	132/285	57/118	—	183/394	6/9	—
OR (95% CI)	1.00	1.01 (0.67, 1.52)	1.33 (0.44, 4.00)	0.8	1.00	1.03 (0.70, 1.53)	0.9	1.00	1.33 (0.45, 3.97)	0.6
<i>GC</i> rs4588										
Cases/controls, <i>n</i>	100/198	77/171	22/35	—	100/198	99/206	—	177/369	22/35	—
OR (95% CI)	1.00	0.84 (0.57, 1.22)	1.17 (0.63, 2.16)	0.9	1.00	0.89 (0.63, 1.27)	0.5	1.00	1.27 (0.71, 2.29)	0.4
<i>GC</i> rs7041										
Cases/controls, <i>n</i>	42/72	92/208	64/132	—	42/72	156/340	—	134/280	64/132	—
OR (95% CI)	1.00	0.80 (0.50, 1.28)	0.91 (0.55, 1.51)	0.8	1.00	0.84 (0.54, 1.31)	0.4	1.00	1.07 (0.73, 1.56)	0.7
<i>RXR</i> rs7861779										
Cases/controls, <i>n</i>	136/307	58/82	5/6	—	136/307	63/88	—	194/389	5/6	—
OR (95% CI)	1.00	1.60 (1.06, 2.41)	1.61 (0.45, 5.76)	0.03	1.00	1.60 (1.07, 2.38)	0.02	1.00	1.43 (0.40, 5.08)	0.6
<i>RXR</i> rs12004589										
Cases/controls, <i>n</i>	149/317	45/82	1/4	—	149/317	46/86	—	194/399	1/4	—
OR (95% CI)	1.00	1.22 (0.80, 1.86)	0.52 (0.06, 4.84)	0.5	1.00	1.18 (0.78, 1.80)	0.4	1.00	0.49 (0.05, 4.61)	0.5
<i>CASR</i> rs1801725										
Cases/controls, <i>n</i>	140/292	53/103	5/14	—	140/292	58/117	—	193/395	5/14	—
OR (95% CI)	1.00	1.07 (0.72, 1.60)	0.85 (0.29, 2.50)	0.9	1.00	1.05 (0.71, 1.55)	0.8	1.00	0.83 (0.29, 2.43)	0.7
<i>CASR</i> rs4678174										
Cases/controls, <i>n</i>	98/184	81/174	12/39	—	98/184	93/213	—	179/358	12/39	—
OR (95% CI)	1.00	0.91 (0.62, 1.32)	0.56 (0.27, 1.21)	0.2	1.00	0.84 (0.59, 1.21)	0.3	1.00	0.59 (0.29, 1.17)	0.1

¹Tobacco-related cancer sites were as follows: lung, oral cavity, pharynx, larynx, esophagus, pancreas, urinary bladder, ureter, kidney, nasal sinuses, stomach, liver, uterine cervix, ovary, myeloid leukemia, colon-rectum, and anus. Participants were matched for sex, age at baseline, intervention group of the initial SU.VLMAX trial, season of blood draw, menopausal status, and use of hormonal treatment of menopause, and models were further adjusted for the 25-hydroxyvitamin D concentration at baseline (continuous; in ng/mL), educational level (primary, secondary, and superior), physical activity (irregular, <1-h/d walking equivalent, and \geq 1-h/d walking equivalent), alcohol intake (continuous; in g/d), smoking status (never, former, and current), height (continuous; in cm), BMI (continuous; in kg/m²), and family history of overall cancer (yes or no). Missing data were as follows: *n* = 44 for rs1544410, *n* = 22 for rs2228570, *n* = 28 for rs11568820, *n* = 35 for rs4809958, *n* = 24 for rs4588, *n* = 17 for rs7041, *n* = 33 for rs7861779, *n* = 29 for rs12004589, *n* = 20 for rs1801725, and *n* = 39 for rs4678174. *CASR*, calcium-sensing receptor; *CYP24A1*, 1,25-dihydroxyvitamin D3 24-hydroxylase; *GC*, vitamin D binding protein; HT, heterozygous type; MT, homozygous mutant type; *RXR*, retinoid X receptor; SU.VLMAX, Supplémentation en vitamines et minéraux antioxydants; *VDR*, vitamin D receptor; WT, wild type.

on tobacco-related cancers overall, the number of cases for each site was limited so that statistical power was not sufficient to allow separate analyses by cancer sites. Furthermore, colorectal cancer was the most-represented site in our sample, and because of the established inverse association between vitamin D status and colorectal cancer risk, it could be hypothesized that our results were driven by this site. However, because all results were similar when colorectal cancer cases were excluded but became borderline significant, the results suggest that, although colorectal cancer did contribute to the findings, the observed associations were not entirely explained by this cancer site. Statistical power was also limited in the stratified and in genetic analyses. Although this limitation may have restricted our ability to detect some of the associations, this drawback was unlikely to explain the observed relations that were significant despite this potential power limitation. Additional levels of

stratifications (e.g., by BMI or alcohol intake) were also not possible in this study because of the limited sample size. Finally, smoking status was only assessed at baseline, and no detailed information was available on the duration of smoking or the time since former smokers quit smoking.

In conclusion, this prospective study observed decreased risk of tobacco-related cancers for 25(OH)D concentrations \geq 30 ng/mL, particularly in smokers. Consistently, 2 genetic polymorphisms were shown to be associated with increased risk of tobacco-related cancers (i.e., the A allele of *VDR FokI* and the T allele of *RXR* rs7861779), which could reflect the less-effective activity of vitamin D induced by these polymorphisms. Our results on vitamin D status were consistent with the only existing prospective study that has dealt with tobacco-related cancers, and to our knowledge, our study is the first to investigate the link between vitamin D-related gene polymorphisms and risk of



tobacco-related cancers. These results, which are supported by mechanistic data from experimental studies, provide insight into the role of vitamin D in the prevention of tobacco-related cancers and deserve additional exploration in future large prospective studies.

We thank Younes Esseddik, Gwenael Monot, Paul Flanzly, Mohand Ait Oufella, Yasmina Chelghoum, and Than Duong Van (computer scientists); Rachida Mehroug (logistic assistant); and Nathalie Amault, Véronique Gourlet, Fabien Szabo, Laurent Bourhis, and Stephen Besseau (statisticians) for their technical contributions to the SU.VI.MAX study.

The authors' responsibilities were as follows—MD: performed the statistical analysis; MD and MT: designed the research, wrote the manuscript, and had primary responsibility for the final content of the manuscript; J-CS, PL-M, AS, NC, ND-P, PG, SH, SLC, EK-G, and KE: contributed to the data interpretation and revised each draft of the manuscript for important intellectual content; SH, PG, MT, AS, and NC: conducted the research; and all authors: read and approved the final manuscript. None of the authors reported a conflict of interest related to the study.

REFERENCES

- Hecht SS. Tobacco carcinogens, their biomarkers and tobacco-induced cancer. *Nat Rev Cancer* 2003;3:733–44.
- Feldman D, Krishnan AV, Swami S, Giovannucci E, Feldman BJ. The role of vitamin D in reducing cancer risk and progression. *Nat Rev Cancer* 2014;14:342–57.
- Hummel DM, Thiem U, Hobaus J, Mesteri I, Guber L, Stremnitzer C, Graca J, Obermayer-Pietsch B, Kallay E. Prevention of preneoplastic lesions by dietary vitamin D in a mouse model of colorectal carcinogenesis. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2013;136:284–8.
- Pommersgaard HC, Burchard J, Rosenberg J, Raskov H. Oral chemoprevention with acetylsalicylic acid, vitamin D and calcium reduces the risk of tobacco carcinogen-induced bladder tumors in mice. *Cancer Invest* 2013;31:490–3.
- Pommersgaard HC, Burchard J, Rosenberg J, Raskov H. Chemoprevention with acetylsalicylic acid, vitamin D and calcium reduces risk of carcinogen-induced lung tumors. *Anticancer Res* 2013;33:4767–70.
- Ordóñez-Moran P, Larriba MJ, Pendas-Franco N, Aguilera O, Gonzalez-Sanchez JM, Munoz A. Vitamin D and cancer: an update of in vitro and in vivo data. *Front Biosci* 2005;10:2723–49.
- Secretan B, Straif K, Baan R, Grosse Y, El GF, Bouvard V, Benbrahim-Tallaa L, Guha N, Freeman C, Galichet L, et al. A review of human carcinogens—part E: tobacco, areca nut, alcohol, coal smoke, and salted fish. *Lancet Oncol* 2009;10:1033–4.
- Afzal S, Bojesen SE, Nordestgaard BG. Low plasma 25-hydroxyvitamin D and risk of tobacco-related cancer. *Clin Chem* 2013;59:771–80.
- IARC. Vitamin D and cancer. IARC Working Group Reports vol. 5. Lyon (France): International Agency for Research on Cancer; 2008.
- Ma Y, Zhang P, Wang F, Yang J, Liu Z, Qin H. Association between vitamin D and risk of colorectal cancer: a systematic review of prospective studies. *J Clin Oncol* 2011;29:3775–82.
- Touvier M, Chan DS, Lau R, Aune D, Vieira R, Greenwood DC, Kampman E, Riboli E, Hercberg S, Norat T. Meta-analyses of vitamin D intake, 25-hydroxyvitamin D status, vitamin D receptor polymorphisms, and colorectal cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2011;20:1003–16.
- Mondul AM, Weinstein SJ, Moy KA, Mannisto S, Albanes D. Vitamin D-binding protein, circulating vitamin D and risk of renal cell carcinoma. *Int J Cancer* 2014;134:2699–706.
- Ordóñez-Mena JM, Schottker B, Haug U, Müller H, Kohler J, Schomburg I, Holleczer B, Brenner H. Serum 25-hydroxyvitamin D and cancer risk in older adults: results from a large German prospective cohort study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2013;22:905–16.
- Wang JB, Abnet CC, Chen W, Dawsey SM, Fan JH, Yin LY, Yin J, Major JM, Taylor PR, Qiao YL, et al. Association between serum 25 (OH) vitamin D, incident liver cancer and chronic liver disease mortality in the Linxian Nutrition Intervention Trials: a nested case-control study. *Br J Cancer* 2013;109:1997–2004.
- Amaral AF, Méndez-Pertuz M, Muñoz A, Silverman DT, Allory Y, Kogevinas M, Lloreta J, Rothman N, Carrato A, Rivas del Fresno M, et al. Plasma 25-hydroxyvitamin D(3) and bladder cancer risk according to tumor stage and FGFR3 status: a mechanism-based epidemiological study. *J Natl Cancer Inst* 2012;104:1897–904.
- Arem H, Weinstein SJ, Horst RL, Virtamo J, Yu K, Albanes D, Abnet CC. Serum 25-hydroxyvitamin D and risk of oropharynx and larynx cancers in Finnish men. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2011;20:1178–84.
- Abnet CC, Chen Y, Chow WH, Gao YT, Helzlsouer KJ, Le ML, McCullough ML, Shikany JM, Virtamo J, Weinstein SJ, et al. Circulating 25-hydroxyvitamin D and risk of esophageal and gastric cancer: Cohort Consortium Vitamin D Pooling Project of Rarer Cancers. *Am J Epidemiol* 2010;172:94–106.
- Mondul AM, Weinstein SJ, Mannisto S, Snyder K, Horst RL, Virtamo J, Albanes D. Serum vitamin D and risk of bladder cancer. *Cancer Res* 2010;70:9218–23.
- Stolzenberg-Solomon RZ, Hayes RB, Horst RL, Anderson KE, Hollis BW, Silverman DT. Serum vitamin D and risk of pancreatic cancer in the prostate, lung, colorectal, and ovarian screening trial. *Cancer Res* 2009;69:1439–47.
- Chen W, Dawsey SM, Qiao YL, Mark SD, Dong ZW, Taylor PR, Zhao P, Abnet CC. Prospective study of serum 25(OH)-vitamin D concentration and risk of oesophageal and gastric cancers. *Br J Cancer* 2007;97:123–8.
- Fu Y, Li J, Zhang Y. Polymorphisms in the vitamin D receptor gene and the lung cancer risk. *Tumour Biol* 2014;35:1323–30.
- Zheng XE, Lipka S, Li T, Shahzad G, Levine E, Vlacanich R, Takeshige U, Mustacchia P. The relationship of vitamin D status, smoking, and colorectal adenoma: a retrospective study in an ethnically diverse community. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2013;136:280–3.
- Bai YH, Lu H, Hong D, Lin CC, Yu Z, Chen BC. Vitamin D receptor gene polymorphisms and colorectal cancer risk: a systematic meta-analysis. *World J Gastroenterol* 2012;18:1672–9.
- Meng F, Ma P, Sui C, Tian X, Li Y, Fu L, Jiang T, Wang Y, Jiang Y. The association between VDR polymorphisms and renal cell carcinoma susceptibility: a meta-analysis. *Tumour Biol* 2014;35:6065–72.
- Yao X, Zeng H, Zhang G, Zhou W, Yan Q, Dai L, Wang X. The associated ion between the VDR gene polymorphisms and susceptibility to hepatocellular carcinoma and the clinicopathological features in subjects infected with HBV. *Biomed Res Int* 2013;2013:953974.
- Zeljic K, Supic G, Stamenkovic RM, Jovic N, Kozomara R, Magic Z. Vitamin D receptor, CYP27B1 and CYP24A1 genes polymorphisms association with oral cancer risk and survival. *J Oral Pathol Med* 2012;41:779–87.
- Jacobs ET, Martínez ME, Campbell PT, Conti DV, Duggan D, Figueiredo JC, Haile RW, LeRoy EC, Poynter JN, Thompson PA, et al. Genetic variation in the retinoid X receptor and calcium-sensing receptor and risk of colorectal cancer in the Colon Cancer Family Registry. *Carcinogenesis* 2010;31:1412–6.
- Jenab M, McKay J, Bueno-de-Mesquita HB, van Duijnhoven FJ, Ferrari P, Slimani N, Jansen EH, Pischon T, Rinaldi S, Tjønneland A, et al. Vitamin D receptor and calcium sensing receptor polymorphisms and the risk of colorectal cancer in European populations. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2009;18:2485–91.
- Mittal RD, Manchanda PK, Bhat S, Bid HK. Association of vitamin-D receptor (Fok-I) gene polymorphism with bladder cancer in an Indian population. *BJU Int* 2007;99:933–7.
- Hercberg S, Galan P, Preziosi P, Bertrais S, Mennen L, Malvy D, Roussel AM, Favier A, Briançon S. The SU.VI.MAX Study: a randomized, placebo-controlled trial of the health effects of antioxidant vitamins and minerals. *Arch Intern Med* 2004;164:2335–42.
- Hercberg S, Preziosi P, Briançon S, Galan P, Triol I, Malvy D, Roussel AM, Favier A. A primary prevention trial using nutritional doses of antioxidant vitamins and minerals in cardiovascular diseases and cancers in a general population: the SU.VI.MAX study—design, methods, and participant characteristics. *Supplementation en Vitamines et Minéraux Antioxydants. Control Clin Trials* 1998;19:336–51.
- WHO. ICD-10, International classification of diseases and related health problems. 10th revision. Geneva (Switzerland): World Health Organization; 2010.
- Le Moullec N, Deheeger M, Preziosi P, Montero P, Valeix P, Rolland-Cachera M, Potier de Courcy G, Christides J, Galan P, Hercberg S. Validation du manuel photo utilisé pour l'enquête alimentaire de l'étude SU.VI.MAX [Validation of the food portion size booklet used in the SU.VI.MAX study]. *Cah Nutr Diet* 1996;31:158–64 (in French).



34. Hercberg S. Table de composition SU.VI.MAX des aliments. [SU.VI. MAX food composition table] Paris: Les Éditions INSERM/Economica; 2005 (in French).
35. Touvier M, Deschasaux M, Montourcy M, Sutton A, Chamaux N, Kesse-Guyot E, Fezeu LK, Latino-Martel P, Druetne-Pecollo N, Malvy D, et al. Interpretation of plasma PTH concentrations according to 25OHD status, gender, age, weight status, and calcium intake: importance of the reference values. *J Clin Endocrinol Metab* 2014;99:1196–203.
36. Touvier M, Deschasaux M, Montourcy M, Sutton A, Chamaux N, Kesse-Guyot E, Assmann KE, Fezeu L, Latino-Martel P, Druetne-Pecollo N, et al. Determinants of vitamin D status in Caucasian adults: influence of sun exposure, dietary intake, socio-demographic, lifestyle, anthropometric and genetic factors. *J Invest Dermatol* 2015;135:378–88.
37. Knudsen CS, Nexø E, Hojsook CS, Heickendorff L. Analytical validation of the Roche 25-OH Vitamin D Total assay. *Clin Chem Lab Med* 2012;50:1965–8.
38. Willett WC, Howe GR, Kushi LH. Adjustment for total energy intake in epidemiologic studies. *Am J Clin Nutr* 1997;65:1220S–8S.
39. Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA, Gordon CM, Hanley DA, Heaney RP, Murad MH, Weaver CM. Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab* 2011;96:1911–30.
40. Dupont WD, Plummer WD Jr. Power and sample size calculations. A review and computer program. *Control Clin Trials* 1990;11:116–28.
41. Welsh J. Cellular and molecular effects of vitamin D on carcinogenesis. *Arch Biochem Biophys* 2012;523:107–14.
42. Kutuzova GD, DeLuca HF. 1,25-Dihydroxyvitamin D3 regulates genes responsible for detoxification in intestine. *Toxicol Appl Pharmacol* 2007;218:37–44.
43. Ochs-Balcom HM, Cicek MS, Thompson CL, Tucker TC, Elston RC, Plummer J, Casey G, Li L. Association of vitamin D receptor gene variants, adiposity and colon cancer. *Carcinogenesis* 2008;29:1788–93.
44. Liu Z, Calderon JJ, Zhang Z, Sturgis EM, Spitz MR, Wei Q. Polymorphisms of vitamin D receptor gene protect against the risk of head and neck cancer. *Pharmacogenet Genomics* 2005;15:159–65.
45. Kaabachi W, Kaabachi S, Raffafi A, Amor AB, Tizaoui K, Haj SF, Hamzaoui K. Association of vitamin D receptor FokI and ApaI polymorphisms with lung cancer risk in Tunisian population. *Mol Biol Rep* 2014;41:6545–53.
46. Köstner K, Denzer N, Müller CS, Klein R, Tilgen W, Reichrath J. The relevance of vitamin D receptor (VDR) gene polymorphisms for cancer: a review of the literature. *Anticancer Res* 2009;29:3511–36.
47. Uitterlinden AG, Fang Y, van Meurs JB, Pols HA, van Leeuwen JP. Genetics and biology of vitamin D receptor polymorphisms. *Gene* 2004;338:143–56.
48. Mahmoudi T, Karimi K, Arkani M, Farahani H, Nobakht H, Dabiri R, Asadi A, Vahedi M, Zali MR. Lack of associations between Vitamin D metabolism-related gene variants and risk of colorectal cancer. *Asian Pac J Cancer Prev* 2014;15:957–61.
49. Poynter JN, Jacobs ET, Figueiredo JC, Lee WH, Conti DV, Campbell PT, Levine AJ, Limburg P, Le ML, Cotterchio M, et al. Genetic variation in the vitamin D receptor (VDR) and the vitamin D-binding protein (GC) and risk for colorectal cancer: results from the Colon Cancer Family Registry. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2010;19:525–36.



Annexe 8 Questionnaire « Connaissances de la vitamine D », retranscription et captures d'écran, cohorte NutriNet-Santé, 2012-2015

Avez-vous déjà entendu parler de la vitamine D ?

- | | |
|----------------|--------------------------|
| Oui* | <input type="checkbox"/> |
| Non | <input type="checkbox"/> |
| Je ne sais pas | <input type="checkbox"/> |

** Seuls les participants ayant répondu "Oui" à cette première question avaient accès aux questions suivantes*

Chez qui ou comment en avez-vous entendu parler ?

(choix multiples)

- | | |
|---|--------------------------|
| Chez votre médecin | <input type="checkbox"/> |
| Chez un autre professionnel de la santé | <input type="checkbox"/> |
| Dans un quotidien d'information | <input type="checkbox"/> |
| Dans un magazine | <input type="checkbox"/> |
| A la radio | <input type="checkbox"/> |
| A la télévision | <input type="checkbox"/> |
| Chez des amis ou des proches | <input type="checkbox"/> |
| A l'école ou à l'Université | <input type="checkbox"/> |
| Ailleurs | <input type="checkbox"/> |
| Je ne me souviens plus | <input type="checkbox"/> |

Selon vous, la vitamine D a-t-elle un intérêt dans les états de santé suivants ?

Avoir des os sains

- | | | |
|----------------|----------------|--------------------------|
| (choix unique) | Oui | <input type="checkbox"/> |
| | Non | <input type="checkbox"/> |
| | Je ne sais pas | <input type="checkbox"/> |

L'ostéoporose

- | | | |
|----------------|----------------|--------------------------|
| (choix unique) | Oui | <input type="checkbox"/> |
| | Non | <input type="checkbox"/> |
| | Je ne sais pas | <input type="checkbox"/> |

Le rachitisme

- | | | |
|----------------|----------------|--------------------------|
| (choix unique) | Oui | <input type="checkbox"/> |
| | Non | <input type="checkbox"/> |
| | Je ne sais pas | <input type="checkbox"/> |

Le cancer en général

- | | | |
|----------------|----------------|--------------------------|
| (choix unique) | Oui | <input type="checkbox"/> |
| | Non | <input type="checkbox"/> |
| | Je ne sais pas | <input type="checkbox"/> |

Les cancers de la peau

- | | | |
|----------------|----------------|--------------------------|
| (choix unique) | Oui | <input type="checkbox"/> |
| | Non | <input type="checkbox"/> |
| | Je ne sais pas | <input type="checkbox"/> |

Les autres maladies de la peau

- | | | |
|----------------|----------------|--------------------------|
| (choix unique) | Oui | <input type="checkbox"/> |
| | Non | <input type="checkbox"/> |
| | Je ne sais pas | <input type="checkbox"/> |

Les maladies du rein

- | | | |
|----------------|----------------|--------------------------|
| (choix unique) | Oui | <input type="checkbox"/> |
| | Non | <input type="checkbox"/> |
| | Je ne sais pas | <input type="checkbox"/> |

La maladie d'Alzheimer

- | | | |
|----------------|----------------|--------------------------|
| (choix unique) | Oui | <input type="checkbox"/> |
| | Non | <input type="checkbox"/> |
| | Je ne sais pas | <input type="checkbox"/> |

Le diabète

- | | | |
|----------------|----------------|--------------------------|
| (choix unique) | Oui | <input type="checkbox"/> |
| | Non | <input type="checkbox"/> |
| | Je ne sais pas | <input type="checkbox"/> |

Les maladies du cœur (choix unique)	Oui	<input type="checkbox"/>
	Non	<input type="checkbox"/>
	Je ne sais pas	<input type="checkbox"/>
Les maladies psychiatriques (choix unique)	Oui	<input type="checkbox"/>
	Non	<input type="checkbox"/>
	Je ne sais pas	<input type="checkbox"/>
Les infections en général (choix unique)	Oui	<input type="checkbox"/>
	Non	<input type="checkbox"/>
	Je ne sais pas	<input type="checkbox"/>
La grossesse (choix unique)	Oui	<input type="checkbox"/>
	Non	<input type="checkbox"/>
	Je ne sais pas	<input type="checkbox"/>
Aucun effet sur la santé (choix unique)	Oui	<input type="checkbox"/>
	Non	<input type="checkbox"/>
	Je ne sais pas	<input type="checkbox"/>

D'où pensez-vous que l'organisme puisse obtenir de la vitamine D ?

(choix multiples)	Le poisson gras (hareng, maquereau...)	<input type="checkbox"/>
	Le poisson maigre (colin, cabillaud, lieu...)	<input type="checkbox"/>
	L'huile de foie de morue	<input type="checkbox"/>
	Les produits laitiers ¹	<input type="checkbox"/>
	Les produits laitiers enrichis en vitamine D ¹	<input type="checkbox"/>
	Le poulet	<input type="checkbox"/>
	La viande rouge	<input type="checkbox"/>
	Les abats d'animaux (foies de veau ou de boeuf par exemple)	<input type="checkbox"/>
	Les œufs	<input type="checkbox"/>
	L'huile d'olive	<input type="checkbox"/>
	Les suppléments antioxydants	<input type="checkbox"/>
	Les suppléments vitaminiques	<input type="checkbox"/>
	Les médicaments à base de vitamine D	<input type="checkbox"/>
	L'exposition de la peau au soleil	<input type="checkbox"/>
	Je ne sais pas	<input type="checkbox"/>

Etes-vous d'accord avec les affirmations suivantes :

Je pense que mon taux de vitamine D est trop bas

(choix unique)	D'accord	<input type="checkbox"/>
	Pas d'accord	<input type="checkbox"/>
	Je ne sais pas	<input type="checkbox"/>

Les cabines et bancs solaires artificiels des salons de bronzage me permettent d'avoir de la vitamine D pendant les mois d'hiver

(choix unique)	D'accord	<input type="checkbox"/>
	Pas d'accord	<input type="checkbox"/>
	Je ne sais pas	<input type="checkbox"/>

¹ En France, l'enrichissement en vitamine D des aliments est autorisée mais facultative

Connaissances liées à la vitamine D

Avez-vous déjà entendu parler de la vitamine D ?

- Oui
- Non
- Je ne sais pas

Chez qui ou comment en avez-vous entendu parler ?

(Plusieurs choix possibles)

- Chez votre médecin
- Chez un autre professionnel de la santé (pharmacien, diététicien, kinésithérapeute, dentiste, infirmier...)
- Dans un quotidien d'information
- Dans un magazine
- A la radio
- A la télévision
- Chez des amis ou des proches
- A l'école où à l'Université
- Ailleurs
- Je ne me souviens plus

Selon vous, la vitamine D a-t-elle un intérêt dans les états de santé suivants ?

	Oui	Non	Je ne sais pas
Avoir des os sains	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>
L'ostéoporose	<input type="radio"/> Oui	<input type="radio"/> Non	<input checked="" type="radio"/> Je ne sais pas
Le rachitisme	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>
Le cancer en général	<input type="radio"/> Oui	<input type="radio"/> Non	<input checked="" type="radio"/> Je ne sais pas
Les cancers de la peau	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>
Les autres maladies de la peau	<input type="radio"/> Oui	<input type="radio"/> Non	<input checked="" type="radio"/> Je ne sais pas
Les maladies du rein	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>
La maladie d'Alzheimer	<input type="radio"/> Oui	<input type="radio"/> Non	<input checked="" type="radio"/> Je ne sais pas
Le diabète	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>

Les maladies du cœur	<input type="radio"/> Oui <input type="radio"/> Non <input checked="" type="radio"/> Je ne sais pas
Les maladies psychiatriques	<input type="radio"/> Oui <input type="radio"/> Non <input checked="" type="radio"/> Je ne sais pas
Les infections en général	<input type="radio"/> Oui <input type="radio"/> Non <input checked="" type="radio"/> Je ne sais pas
La grossesse	<input type="radio"/> Oui <input type="radio"/> Non <input checked="" type="radio"/> Je ne sais pas
Aucun effet sur la santé	<input type="radio"/> Oui <input type="radio"/> Non <input checked="" type="radio"/> Je ne sais pas

D'où pensez-vous que l'organisme puisse obtenir de la vitamine D ?

(Plusieurs choix possibles)

- Le poisson gras (hareng, maquereau...)
- Le poisson maigre (colin, cabillaud, lieu...)
- L'huile de foie de morue
- Les produits laitiers
- Les produits laitiers enrichis en vitamine D
- Le poulet
- La viande rouge
- Les abats d'animaux (foies de veau ou de bœuf par exemple)
- Les œufs
- L'huile d'olive
- Les suppléments antioxydants
- Les suppléments vitaminiques
- Les médicaments à base de vitamine D
- L'exposition de la peau au soleil
- Je ne sais pas

Êtes-vous d'accord avec les affirmations suivantes :

	D'accord	Pas d'accord	Je ne sais pas
Si je protège tout le temps ma peau du soleil, je n'aurais pas assez de vitamine D	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>
Je pense que mon taux de vitamine D est trop bas	<input type="radio"/> D'accord	<input type="radio"/> Pas d'accord	<input checked="" type="radio"/> Je ne sais pas
Les cabines et les bancs solaires artificiels des salons de bronzage me permettent d'avoir de la vitamine D pendant les mois d'hiver	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	<input checked="" type="radio"/>

◀ Précédent | Suite ▶

Résumé – Vitamine D : statut, polymorphismes génétiques, risque de cancer et modulation par des facteurs individuels

Ce travail de thèse s'articule en deux parties. Dans une première partie (aspects descriptifs, cohortes SU.VI.MAX et NutriNet-Santé), nous avons mis en évidence différents facteurs influençant le statut en vitamine D, parmi lesquels certains sont modifiables et pourraient ainsi faire l'objet de recommandations de santé publique (exposition solaire modérée, activité physique, maintenance d'un poids normal). Sur la base de ces déterminants, nous avons développé le score VDIP permettant d'identifier de manière simple en pratique clinique des adultes à risque d'insuffisance en vitamine D. Enfin, l'étude des connaissances liées à la vitamine D dans un large groupe d'adultes issus de la population générale a mis en évidence une certaine confusion par rapport aux sources de vitamine D et à ses effets santé établis ou non.

Dans une seconde partie (aspects étiologiques, étude cas-témoin nichée dans la cohorte SU.VI.MAX), nous avons mis en évidence qu'un statut plus élevé en vitamine D (parmi des concentrations plasmatiques en 25(OH)D faibles à modérées telles qu'observées dans cette étude) pourrait être associé à une diminution de risque de cancer du sein, de cancer de la prostate et de cancers liés au tabac. Ces associations seraient toutefois modifiées par différents facteurs individuels comme le statut pondéral ou la consommation d'alcool (cancer du sein en particulier). L'étude des différents polymorphismes génétiques a permis de confirmer les résultats observés avec le statut en vitamine D.

Dans un contexte où la vitamine D suscite une attention grandissante, les résultats de cette thèse contribuent à mieux connaître les facteurs influençant le statut en vitamine D, à fournir un aperçu détaillé des connaissances/croyances concernant la vitamine D en population générale et fournissent de nouveaux éléments pour une meilleure compréhension du rôle de la vitamine D dans l'étiologie des cancers. Ces travaux pourraient ainsi participer, à terme, à l'optimisation des recommandations de santé publique pour l'amélioration du statut en vitamine D de la population et pour la prévention primaire des cancers.

Abstract – Vitamin D: status, genetic polymorphisms, cancer risk and modulation by individual characteristics

Two main parts structured this PhD thesis. In the first part (descriptive work, SU.VI.MAX and NutriNet-Santé cohorts), we identified factors that influenced vitamin D status, some of which being modifiable (e.g. moderate sun exposure, physical activity, normal weight) and as such constitute interesting targets for public health policies. Using these determinants, we developed the VDIP score in order to simply identify adults at risk of vitamin D insufficiency. Finally, the study dealing with vitamin D-related knowledge showed that the primary sources of vitamin D-related information were the physicians and the media and that some confusion existed regarding the sources and the proven/unproven health effects of vitamin D.

In a second part (etiological work, nested case-control study, SU.VI.MAX cohort), we showed that a higher vitamin D status (within the low-to-moderate range of plasma 25(OH)D concentrations observed in this study) may be associated with a decreased risk of breast, prostate and tobacco-related cancers. These associations were modified by individual factors such as weight status and alcohol intake (in particular breast cancer). The studied genetic polymorphisms confirmed the associations observed with vitamin D status.

In a context where vitamin D arouses considerable interest, these results may contribute to a better understanding of the factors that influence vitamin D status, to a better insight of what people know and believe regarding vitamin D and to a better understanding of the role of vitamin D in the etiology of cancer. These PhD findings could eventually contribute to the optimization of public health nutritional recommendations for the improvement of vitamin D status in the population and for cancer primary prevention.

Mots-clés: vitamine D, statut, polymorphismes génétiques, déterminants, connaissances/croyances, cancer, sein, prostate, tabac, alcool, statut pondéral, interaction, études prospective

Discipline: Biologie (Epidémiologie-Santé publique)

Laboratoire d'accueil: Equipe de Recherche en Epidémiologie Nutritionnelle (EREN) – UMR U1153 Inserm, U1125 Inra, Cnam, Universités Paris 5, 7 et 13 – Centre de Recherche en Epidémiologie et Biostatistiques Sorbonne Paris Cité (CRESS) – UFR SMBH, 74 rue Marcel Cachin, 93017 Bobigny, France