

孟德尔随机化分析在肝癌病因探索中的研究进展

季军, 黄纪伟

四川大学华西医院肝脏外科, 四川成都 610041

摘要: 对肝癌风险因素的深入研究是肝癌筛查防治的基础。作为对传统流行病学研究方法的补充, 孟德尔随机化分析利用遗传相关变异作为工具变量, 分析相关暴露因素与结局之间的关联, 为肝癌的病因探索提供了新途径, 并有望确定潜在的治疗干预措施。本文主要概述了该方法, 并从生活方式相关因素、肥胖相关因素、免疫相关疾病、肠道菌群和其他相关因素5个方面综述了近年来肝癌领域的孟德尔随机化研究进展, 对未来发展方向进行了展望。

关键词: 孟德尔随机化, 肝癌, 流行病学, 风险因素, 全基因组关联研究

Recent advances in the application of Mendelian randomization to liver cancer

Jun Ji, Jiwei Huang

Division of Liver Surgery, Department of General Surgery, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China

Abstract: Risk factors for liver cancer have been extensively investigated, which is the basis for liver cancer screening and prevention. As a supplement to traditional epidemiological research methodologies, Mendelian randomization analysis provides a new approach to infer the etiology of liver cancer by using genetic loci as instrumental variables. Moreover, it is expected to determine potential therapeutic targets. In this review, we provide an overview of this methodology and we summarized recent advances in the field of liver cancer from five aspects: lifestyle-related factors, obesity-related factors, immune status, gut microbiota, and other relevant factors. In addition, we also envisioned the direction of its future development.

Keywords: mendelian randomization, liver cancer, epidemiology, risk factors, genome-wide association studies

1. 引言

原发性肝癌 (primary liver cancer, PLC) 是目前第4大最常见的恶性肿瘤, 也是癌症相关死亡率的第2大原因, 严重威胁人民的生命和健康⁽¹⁾。肝细胞癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 是肝癌的主要组织学亚型, 约占其中的90%⁽²⁾。我国的肝癌患者多以乙型肝炎病毒感染及肝硬化为背景, 早期并无特异性症状, 初次就诊时大多为中晚期 (70%), 多数患者已无法进行根治性切除。因此, 对肝癌病因进行深入研究并完善高危人群的风险筛查尤为重要。

肝癌的发生是多因素协同作用, 经过多个过程, 涉及多个基因突变的结果。其中, 肝炎病毒、黄曲霉毒素和代谢相关脂肪性肝病等是肝癌发生的风险因素, 但并不清楚

其他潜在因素与肝癌发生有无因果关联。近来, 孟德尔随机化分析 (Mendelian randomization, MR) 作为一种流行病学病因推断工具, 被广泛应用于癌症领域⁽³⁻⁵⁾。本文将围绕MR及其在肝癌病因探索方面的研究进展进行综述, 并对未来此领域的发展进行展望。

2. 孟德尔随机化分析概述

流行病学研究类型中最为广泛应用的是观察性研究, 其能够客观地反映某种暴露因素与结局的关联, 但也存在选择偏倚及因果推断能力不足等限制。随机对照试验 (randomized controlled trial, RCT) 作为因果效应推断的“金标准”, 其解释效能为广大研究者认同, 但大规模的RCT需要耗费许多精力与经费, 也存在伦理限制与随访难度大等问题⁽⁶⁾。MR分析作为一种新兴便捷的研究方法, 其结合了孟德尔第二定律与工具变量法, 依托全基因组关联研究 (Genome-wide association study, GWAS) 的数据, 探究基因关联的性状与疾病之间的潜在关系。MR研究选取的暴露因素是遗传相关的, 在同一人群中具有普适性, 不太会受到环境因素和反向因果关系的影响⁽⁷⁾。近年来, 许多大型GWAS研究发布, 能够开放获取的高通量数

收稿日期: 2023-12-27; 修回日期: 2024-4-12

基金项目: 无

通讯作者/Corresponding author: 黄纪伟/Jiwei Huang, E-mail: huangjiwei@wchscu.cn

本文编辑: 马亚楠

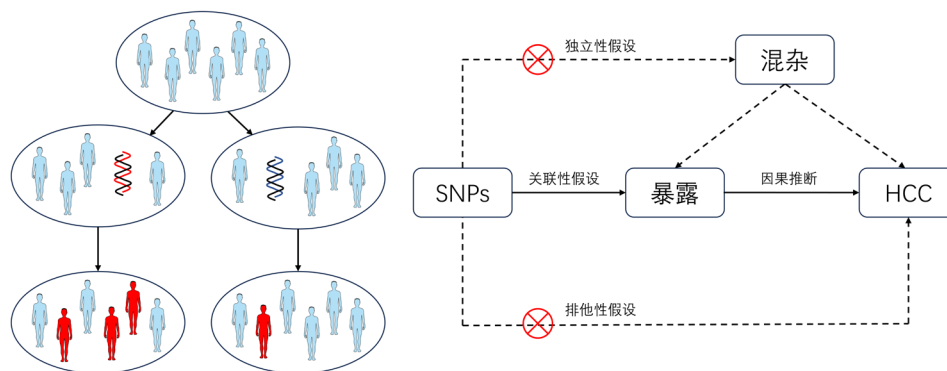


图1. 孟德尔随机化的基本原理和三大假设。SNPs, single nucleotide polymorphisms; HCC, hepatocellular carcinoma。

据越来越多, 促进了MR研究的蓬勃发展。

2.1. 原理与三大基本假设

MR概念(图1)于1986年由Katan首次提出, 基于孟德尔第二定律:“在形成配子时, 决定同一性状的成对遗传因子彼此分离, 决定不同性状的遗传因子自由组合, 互不干扰”, 将GWAS数据库中与不同性状强相关的单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphisms, SNPs)作为工具变量, 推断暴露因素与感兴趣结局之间的关联及其效应值⁽⁸⁾。

MR分析本质以工具变量法作为框架, 挑选合格的工具变量, 需要遵循三大基本假设:(1)关联性假设:采用的工具变量与暴露相关;(2)独立性假设:工具变量须独立于暴露与结局之间的任何混杂因素;(3)排他性假设:工具变量仅能通过暴露对结局产生影响, 不可与结局因素直接相关⁽⁷⁾。

2.2. 研究的基本方法和问题

MR研究起初在单样本人群中进行, 收集个体级别数据, 在进行因果推断时, 选用少量与暴露相关的SNPs等作为工具变量进行分析, 这样小范围的MR研究耗时长, 成本高, 效应值较易受到混杂影响⁽⁸⁾。近年来, 动辄数十万人的高通量GWAS提供的公开汇总级数据愈发完善, 使得MR研究与暴露因素和结局因素相关的遗传变异可分别来自两个互不重叠的样本, 较少受到小样本量或混杂的影响, 在进行因果推断时常用逆方差加权法(inverse variance weighted, IVW)计算效应值⁽⁹⁾。这样的两样本MR分析可重复性强, 可用于筛选的SNPs数量大, 进而有更高的统计效力和更广泛的应用范围, 是目前的主要研究类型。但由于大多采用汇总级数据, 会造成一些亚组信息或其他表型信息难以获得, 一定程度上也限制了后续深入研究。近年来, 中介MR分析、线性/非线性MR分析等这些新分析方法能够对病因背后的机制与变化模式提供更深层次的理解。

在实际应用当中, MR分析会面临不少问题。首先, 为了满足基本假设, 在研究中获得可靠的结果, 需要所选工具变量有着不错的表型解释度, 与暴露因素强相关(通常 $p < 5 \times 10^{-8}$), 并通过计算Cragg-Donald F值来评估所选工具

变量的关联强度(通常F值 >10), 否则可能会存在潜在的“弱工具变量”偏倚, 产生错误的因果估计^(10,11)。其次, 两个遗传变异不是完全独立地遗传, 它们同时出现在一条染色体上的几率, 高于随机出现的频率, 这种现象叫做连锁不平衡(linkage disequilibrium, LD)⁽¹²⁾。选用具有明显LD的SNPs可能会违反排他性假设, 造成假阳性, 因此须选择相互独立的SNPs, 或者采用一些方法校正潜在的偏倚。另外, 一个基因位点可能影响不止一个表型, 所选用的SNPs可能通过其他潜在混杂因素影响结局, 造成多效性偏倚⁽¹³⁾。MR分析中有多种方法评估分析的多效性, 比如采用MR-PRESSO法(Mendelian randomization pleiotropy residual sum and outlier, MR-PRESSO)检验并剔除具有多效性的离群值, 以及采用对多效性进行校正的MR-Egger法等^(14,15)。另外, 两样本MR分析过程中还存在样本重叠、人群分层、发育代偿机制以及统计效力等问题⁽¹⁰⁾。但近年来GWAS数据质量不断提升, 分析方法不断改进, 通过对分析方法的合理应用和规范的结果报告, MR分析能够获得可靠的统计学结果^(16,17)。

3. 孟德尔随机化在肝癌中的应用

肝癌是由多种因素共同参与的肝脏恶性肿瘤, 传统流行病学研究存在着执行成本高、耗时长、混杂因素干扰等问题, MR分析在一定程度上可作为“前临床研究”, 筛选可疑因素, 为大样本高质量研究提供方向和依据。近来, 有关肝癌的MR分析主要围绕生活方式相关因素、肥胖相关因素、免疫相关疾病、肠道菌群以及其他相关因素等展开。纳入的主要研究的基本特征如表1所示。

3.1. 生活方式相关因素与肝癌

大量酒精摄入与酒精性脂肪肝、肝硬化密切相关, 但少量酒精摄入对肝脏的长期作用尚有争议。有队列研究发现, 酒精摄入与HCC发生有正向剂量-反应关系, 但也有研究发现轻度至中度饮酒与HCC风险呈负相关^(18,19)。Liu等⁽²⁰⁾基于UK Biobank的欧洲人群数据进行了一项前瞻性队列研究与MR分析, 并对酒类型、摄入量, 人群BMI等相关因素进行了分层分析。其中, 队列研究的结果提示饮酒与HCC风险之间存在“J”型相关, 即少量饮酒可对肝癌患病低风险人群起到保护作用, 这与先一项前瞻性队

表1. 纳入研究的基本特征

研究者	暴露因素种类	暴露因素	结局因素	结局样本
Liu等 ⁽²⁰⁾	欧洲	生活相关因素	UKBB: 酒精摄入 ($n=329164$)	肝细胞癌 UKBB: 329164名参与者 (201名肝细胞癌患者)
Deng等 ⁽²¹⁾	东亚	生活相关因素	BBJ: 从未/曾经饮酒 ($n=165084$), 酒精摄入 ($n=58610$)	肝细胞癌 BBJ: 197611名参与者 (1866名肝细胞癌患者)
Yuan等 ⁽²²⁾	欧洲	生活相关因素	GSCAN: 酒精摄入 ($n=941280$)	肝癌 混合: 702722名参与者 (714名肝癌患者)
Deng等 ⁽²¹⁾	东亚	生活相关因素	BBJ: 咖啡摄入 ($n=152634$)	肝细胞癌 BBJ: 197611名参与者 (1866名肝细胞癌患者)
Carte等 ⁽²⁶⁾	欧洲	生活相关因素	混合: 咖啡摄入 ($n=125836$)	肝癌 UKBB: 约50万参与者 (463名肝癌患者)
Lumsden等 ⁽²⁹⁾	欧洲	生活相关因素	UKBB: 乳糖酶持久性 ($n=255196$)	肝癌 UKBB: 250423名参与者 (338名肝癌患者); FinnGen: 204512名参与者 (442名肝癌患者)
Yuan等 ⁽³³⁾	欧洲	生活相关因素	UKBB: 睡眠时型 ($n=449734$); 23andMe: 睡眠时型 ($n=248098$)	肝癌 UKBB和FinnGen: 367542名参与者 (503名肝癌患者)
Yang等 ⁽³⁴⁾	欧洲	生活相关因素	UKBB: 睡眠时型 ($n=413343$); 睡眠时长 ($n=460099$)	肝癌 UKBB: 372184名参与者 (168名肝细胞癌患者); FinnGen: 174006名参与者 (304名肝癌患者)
Vithayathil等 ⁽³⁵⁾	欧洲	肥胖相关因素	BMI: $n=806834$; FMI: $n=331291$	肝癌 UKBB: 367561名参与者 (463名肝癌患者)
Pang等 ⁽³⁶⁾	东亚	肥胖相关因素	CKB: BMI ($n=75736$)	肝癌 CKB: 75736名参与者
Thomas等 ⁽³⁸⁾	东亚	肥胖相关因素	SCHS: BMI ($n=24333$)	肝细胞癌 SCHS: 24333名参与者 (208名肝细胞癌患者)
Jiang等 ⁽⁴¹⁾	东亚	肥胖相关因素	AGEN: 脂联素 ($n=7827$)	肝细胞癌 BBJ: 197611名参与者 (1866名肝细胞癌患者)
Huang等 ⁽⁴³⁾	欧洲/东亚	免疫相关疾病	IIBDGC: 炎症性肠病 (欧洲 $n=65642$; 东亚 $n=6543$); 克罗恩病 (欧洲 $n=51874$; 东亚 $n=5409$); 溃疡性结肠炎 (欧洲 $n=47745$; 东亚 $n=4853$)	肝细胞癌 UKBB: 372184名参与者 (168名肝细胞癌患者); BBJ: 197611名参与者 (1866名肝细胞癌患者)
Zhang等 ⁽⁴⁴⁾	东亚	免疫相关疾病	BBJ: 类风湿关节炎 ($n=19190$)	肝细胞癌 BBJ: 197611名参与者 (1866名肝细胞癌患者)
Lu等 ⁽⁴⁶⁾	欧洲	免疫相关疾病	UKBB: 甲状腺功能减退/粘液性水肿 ($n=337159$)	肝细胞癌 UKBB: 372184名参与者 (168名肝细胞癌患者)
Ma等 ⁽⁵⁾	欧洲	肠道菌群	8956名参与者	肝细胞癌/肝内胆管细胞癌 UKBB: 456348名参与者
Wang等 ⁽⁴⁹⁾	欧洲/东亚	血压	ICBP和UKBB: 12个降压药物靶点 ($n=757601$); BBJ: 11个降压药物靶点 ($n=136597$)	肝细胞癌 UKBB: 372184名参与者 (168名肝细胞癌患者); BBJ: 197611名参与者 (1866名肝细胞癌患者)
Min等 ⁽⁵²⁾	欧洲	血脂	UKBB: 3个降脂药物靶点 ($n=462933$)	肝细胞癌 UKBB: 372184名参与者 (168名肝细胞癌患者)
Larsson等 ⁽⁵⁴⁾	东亚	胰岛素样生长因子-1	BBJ: 胰岛素样生长因子-1 ($n=212453$)	肝细胞癌 BBJ: 197611名参与者 (1866名肝细胞癌患者)
Wu等 ⁽⁵⁵⁾	欧洲	血管内皮生长因子	7118名参与者	肝细胞癌 FinnGen: 218792名参与者 (304名肝癌患者)

UKBB, UK Biobank; BBJ, BioBank Japan; GSCAN, GWAS and Sequencing Consortium of Alcohol and Nicotine use; CKB, China Kadoorie Biobank; SCHS, Singapore Chinese Health Study; AGEN, Asian Genetic Epidemiology Network; IIBDGC, International Inflammatory Bowel Disease Genetics Consortium; ICBP, International consortium of blood pressure.

列研究结果一致⁽¹⁹⁾。研究者们认为这种保护作用可能是通过饮用葡萄酒带来的,其中的生物活性成分抵消了酒精的负面作用⁽²⁰⁾。随后的非线性MR分析显示,遗传相关的酒精摄入与HCC风险存在正向线性关系,即任何程度的饮酒行为都会提高患癌风险。Deng等⁽²¹⁾基于东亚人群的MR研究得出了类似的结果,与从不饮酒的人相比,曾经饮酒的人患HCC的风险更高(OR 1.11, 95% CI 1.05–1.18, $p < 0.001$);并且酒精摄入与肝细胞癌风险正相关(OR 1.57, 95% CI 1.32–1.86, $p < 0.001$)。此外,有一项欧洲人群的MR分析⁽²²⁾提示酒精摄入与肝癌风险并没有统计学意义上的关联(OR 1.16, 95% CI 0.43–3.11, $p = 0.775$),但研究纳入的结局因素是PLC,并没有对其中的HCC和肝内胆管细胞癌(intrahepatic cholangiocarcinoma, ICC)等进行分层,这限制了结果的可解释性。总而言之,酒精摄入对于肝癌风险的具体关联模式还需要大规模的前瞻性研究以及更详细的分层分析进一步探索。

饮食相关因素与消化道疾病有着紧密联系。Deng等⁽²¹⁾的东亚人群MR研究发现,咖啡摄入能够对HCC发生起到保护作用(OR 0.69, 95% CI 0.53–0.90, $p = 0.007$),这与先前的研究结果一致^(23,24)。潜在的机制可能是咖啡中的活性化合物(如绿原酸和多酚)发挥着抗氧化与抗炎特性⁽²⁵⁾。但Carter等⁽²⁶⁾在欧洲人群中并没有观察到咖啡与肝癌发生的负性关联,这也许与种族差异以及病因分层等有关。另外,这些GWAS研究中与咖啡摄入相关的数据主要通过自我报告,遗传解释度较低,这对结果解释的影响也需要被考虑。一项基于前瞻性队列研究的荟萃分析显示牛奶摄入量与肝癌死亡率呈正相关⁽²⁷⁾,并且一项中国的队列研究提示摄入较多乳制品与HCC风险升高相关⁽²⁸⁾,但这些观察性研究并不能解释究竟是不是牛奶摄入直接促进了肝癌发生。Lumsden等⁽²⁹⁾使用乳糖酶基因附近的rs4988235作为工具变量,其中“T”等位基因与欧洲人群中乳糖酶持久性相关,基于UK Biobank和FinnGen双队列的MR结果表明牛奶摄入与肝癌风险并没有统计学上的关联(OR 1.10, 95% CI 0.81–1.51, $p = 0.933$)。可惜的是,由于选取的数据限制,文章并没能针对HCC、ICC等进行亚组分析。另外,还有一些饮食相关因素也引起了研究者的关注,如食用肉的种类、饮食来源的抗氧化剂等,这些因素与肝癌风险并没有统计学上的关联或结果的统计效能偏低,未来还需要更庞大的GWAS研究提供数据支持,验证现有的MR结果^(30,31)。

近年来,睡眠特征比如睡眠时长、时型对癌症的影响受到不少研究者关注。国内的一项观察性研究发现长期睡眠时间低于7小时的人群患癌风险增加了69%⁽³²⁾。另外,睡眠时型是指睡眠时间的习惯性提前或延迟。已有研究提示清晨型(即早睡早起型)对乳腺癌与前列腺癌等恶性肿瘤有保护作用,而Yuan等的MR分析⁽³³⁾发现清晨型与肝癌发生风险并没有统计学上的相关性。此外,Yang等⁽³⁴⁾纳入了包括睡眠时长、时型、日间打盹等6种睡眠特征,并进行了亚组分析,也发现清晨型与肝癌风险没有统计学上的关联,但睡眠时长与HCC风险呈负相关。

3.2. 肥胖相关因素与肝癌

肥胖是一种身体脂肪组织过度堆积的状态,伴随着全身慢性炎症与脂源性激素的异常分泌,如瘦素、脂联

素等。体重指数(body mass index, BMI)作为反应肥胖程度的最常用指标,其与癌症的关联被广泛研究。Vithayathil等⁽³⁵⁾开展了一项欧洲人群MR研究,将BMI,脂肪体重指数(fat mass index, FMI),去脂体重指数(fat-free mass index, FFMI)和身高分别作为暴露因素,增加了结果的可解释性,结果表明BMI和FMI是HCC的风险因素(BMI: OR 1.13, 95% CI 1.03–1.25, $p = 0.012$; FMI: OR 2.40, 95% CI 1.02–5.65, $p = 0.045$),在去掉自我报告来源的病例后,结果仍与先前一致。然而,基因预测的肥胖却没能东亚人群的MR研究中观察到类似的结果^(36,37)。

与肥胖密切相关的非酒精性脂肪肝病(Non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)是HCC的确切风险因素,Thomas等⁽³⁸⁾从MR视角验证了这一结果,但NAFLD是否作为肥胖促进肝癌发生过程中的中介及其中介效应大小尚不清楚,需要后期进行中介MR分析进一步探索。另外,有必要关注不同生命阶段的肥胖状态对肝癌发生有无不同影响,同时将腰围、腰臀比、血脂及胰岛素抵抗等综合指标纳入多变量MR模型中分析。

脂联素作为一种脂肪组织分泌的内源性激素,近来被发现代谢、免疫等领域发挥多种作用。着眼于脂联素与肝癌风险的观察性研究较欠缺,在肝炎病毒为主要病因的东亚人群中,脂联素水平升高被认为是肝癌的独立风险因素^(39,40)。Jiang等⁽⁴¹⁾的东亚人群MR研究中,选用经BMI调整的脂联素作为暴露因素进行MR分析,结果提示高水平的脂联素是HCC的风险因素(OR 1.26, 95% CI 1.09–1.44, $p = 0.003$),且很可能独立于肥胖机制驱动。但MR分析只能解释所选暴露因素的这一部分遗传相关变异的影响,存在基因微效性偏倚,其背后复杂的生物学机制还需要大量的基础研究验证。

3.3. 免疫相关疾病与肝癌

免疫相关的疾病负荷与癌症的关联之间存在争议,机体免疫相关因素是MR分析的研究热点之一⁽⁴²⁾。炎症性肠病(Inflammatory bowel disease, IBD)是一种与自身免疫相关的消化道炎症性疾病,分为克罗恩病(Crohn's disease, CD)和溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)。Huang等⁽⁴³⁾进行了一项跨人群的MR分析,观察了东亚与欧洲IBD人群的HCC风险,并进行了亚组分析,结果显示东亚人群长期的IBD状态会促进HCC发生(OR 1.28, 95% CI 1.07–1.52, $p = 0.007$),特别是UC患者(OR 1.28, 95% CI 1.15–1.33, $p < 0.001$);而在欧洲人群中并没有发现IBD与HCC风险之间的联系。类风湿关节炎(rheumatoid arthritis, RA)同样是一种与自身免疫相关的全身性疾病,患者致残致畸率高,RA与HCC之间的关联较少有人关注。Zhang等⁽⁴⁴⁾进行了一项MR分析,发现东亚人群中RA患病状态可能是HCC发生的保护因素(OR 0.86, 95% CI 0.79–0.95, $p = 0.003$),这可能与认知不相符,但一项10年的东亚人群队列研究⁽⁴⁵⁾也提示了一致的结果,RA与较低的HCC风险相关。另外,有欧裔MR研究提示甲状腺功能减退状态与HCC风险降低相关⁽⁴⁶⁾。上述三种疾病都与免疫异常状态相关,在长期患病状态下,患者很可能合并不止一种自身免疫性疾病,并伴有不止一种免疫调节剂的使用。因此,未来需要纳入多种风险因素进行多变量MR分析,并根据疾病的活动状态或严重程度进行亚组分析,

以求得到更加可靠的结果。这些MR分析结果也提示应选择具体人群对特定免疫相关疾病开展大规模研究,以节约研究资源,优化公共卫生决策。

3.4. 肠道菌群与肝癌

肠道菌群与体内各器官都存在一定的联系,其中肠道及其菌群与肝脏之间的相互作用被称为“肠-肝轴”。“肠-肝轴”由门脉血流、淋巴和胆汁酸等介质或通道相联系,在非酒精性脂肪肝、原发性硬化性胆管炎(primary sclerosing cholangitis, PSC)以及肝硬化中都有肠肝串扰机制的身影⁽⁴⁷⁾。有研究发现肠道内的共生菌可以通过自然杀伤T细胞介导肝脏选择性肿瘤抑制⁽⁴⁸⁾。但由于潜在的混杂因素和反向因果关系,通过观察性研究很难确认肠道微生物组与肝癌之间的具体关联。Ma等⁽⁵⁾将病例对照研究与MR分析结合,针对HCC与ICC进行了探索。首先,结果发现瘤胃球菌科(Family_Ruminococcaceae)、卟啉单胞菌属(Genus_Porphyrimonadaceae)与HCC风险呈负相关;卟啉单胞菌科(Family_Porphyrimonadaceae)、拟杆菌属(Genus_Bacteroidetes)与ICC风险呈负相关⁽⁵⁾。在随后的病例对照研究中, Ma等选择了上述阳性菌群作为研究的暴露因素,观察了菌群在健康对照、HCC患者和ICC患者三类结局人群中的丰度情况,发现瘤胃球菌科在健康对照人群的丰度远高于HCC患者,卟啉单胞菌科和拟杆菌属在健康对照人群的丰度高于ICC患者⁽⁵⁾,上述结果与先前MR分析的结果基本一致。研究在推断过程中运用了多种方法进行敏感性分析以减少偏倚,并在MR结果基础上进行病例对照研究,节约了研究资源,并且两者互补加强了因果推断的效力。但研究本身也存在一定的局限性,比如由于测序数据的限制,未能观察到卟啉单胞菌属在健康对照与HCC人群间的相对丰度比;可能会遗漏其他相关的肠道菌群;MR分析人群为欧裔而病例对照人群为东亚人群等⁽⁵⁾。总而言之,目前有关肝癌的肠道菌群MR研究数量较少,但能够提示特定肠道菌群参与了肝癌的发生发展,为今后肝癌病因机制研究与肠菌治疗领域提供了发展方向。

3.5. 其他因素与肝癌

原发性高血压作为一种常见老年疾病,有多种药物治疗手段,如钙通道阻滞剂、血管紧张素转换酶抑制剂等,这些长期服用的降压药与肝癌是否有潜在关联受到越来越多研究者与群众的关注。Wang等⁽⁴⁹⁾开展了一项跨人群药物靶点MR分析,利用了收缩压相关基因的SNPs作为工具变量,探究12种降压药物与肝癌的关联,结果提示噻嗪类利尿剂可能降低欧洲人群和东亚人群患HCC的风险(欧洲:OR 0.79, 95% CI 0.73–0.86, $p < 0.001$; 东亚:OR 0.60, 95% CI 0.45–0.82, $p < 0.001$),而 β 肾上腺素受体抑制剂可能通过急、慢性肝损伤及胆汁淤积等机制与欧洲人群的HCC风险增加有关(OR 1.46, 95% CI 1.12–1.91, $p = 0.004$)。这项MR分析揭示了不同降压药物与HCC风险的关联,为临床用药策略提供了一些依据,但高血压人群中有一部分患者服用不止一种降压药,需要探索多种降压药物共同使用的具体影响。

3-羟基-3-甲基戊二酸单酰辅酶A还原酶(3-hydroxy-

3-methylglutaryl coenzyme A reductase, HMGCR)是胆固醇合成中的关键限速酶,而他汀类药物能够通过抑制HMGCR减少胆固醇合成,治疗高脂血症,延缓多种心脑血管疾病进展⁽⁵⁰⁾。他汀在癌症预防上的作用也引起了研究者们不小的兴趣,Chiu等⁽⁵¹⁾的病例对照研究提示他汀类药物对肝癌具有潜在的保护作用。Min等⁽⁵²⁾选用3种他汀的遗传变异数据作为工具变量,模拟药物在人体的长期暴露作用,推断其在肝癌预防中的表现,结果显示了阿托伐他汀与HCC风险存在微弱的负性关联,但在随后的敏感性分析中这种效应不再显著。因此,目前尚没有充足证据说明遗传预测的他汀类药物对肝癌的预防作用。MR分析与其他方法的结合可能为验证HMGCR这类药物靶点对癌症的影响提供有效路径,比如与共定位分析结合能更好地解释机制,有助于增加研究结果在临床试验中得到转化的可能性。

循环中的胰岛素样生长因子(insulin-like growth factors, IGF)是一种与胰岛素结构类似的活性肽,参与调控细胞生长分化和机体能量代谢,IGF及其受体的功能异常有可能促使肥胖状态、糖尿病以及恶性肿瘤的发生⁽⁵³⁾。Larsson等的MR研究发现东亚人群中基因预测的IGF-1与结直肠癌风险升高相关,但未在HCC风险中观察到阳性结果⁽⁵⁴⁾。遗憾的是,研究没能对IGF-1及其受体一同纳入分析,同时也应考虑生长激素、BMI等因素对结果的干扰以及可能的反向因果。另一项双向MR分析探究了血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)与多种癌症风险的关联,其中VEGF与肝癌风险的分析得出了阴性结果⁽⁵⁵⁾。另外,在有关循环血细胞成分的多变量MR研究中发现,嗜碱性粒细胞总数与HCC风险升高相关,这可能与嗜碱性粒细胞调节癌症免疫反应与相关慢性炎症过程有关,还需要进一步研究解释背后的生物学机制⁽⁵⁶⁾。

4. 总结与展望

由于高通量基因技术与GWAS数据库的发展,肝癌领域的MR研究越来越多,这些研究聚焦于以往较少讨论或尚有争议的因素与肝癌之间的关联,提供了MR视角的因果推断依据,正在改变我们对肝癌的理解,但仍存在一些挑战。首先,目前的数据库主要以欧洲后裔为特征,人群的代表性不足限制了MR研究结果的适用性。其次,现有研究大多采用汇总级别数据,常常假设关联为线性模式,而对于深在的非线性关联模式或者阈值效应难以进一步探索。不仅如此,MR分析通常用于推断终身暴露因素对结局的影响,然而用于作为工具变量的SNPs来源于在特定时间点的GWAS,不同年龄的个体与暴露相关的SNPs可能不同,并且随着时间的推移,这些性状也许会随着环境的变化而变化。另外,解释遗传变异的临床意义仍然很复杂,MR分析仅能解释所选暴露因素的这一部分遗传相关变异与结局的关联,应将现有的观察性研究和RCT证据进行讨论,也应讨论背后的生物学机制。最后,仅有部分研究在分析过程中进行了多重比较的校正,这可能存在统计学假阳性风险。

虽然MR分析目前仍处于初步发展阶段,但已经能看出其在流行病学病因探索中的重要作用与研究者的关注程度。未来,肝癌相关的MR研究可能会依托更大样本量、更多不同人群的GWAS数据对现有一些统计效力不足的研

究进行更新,与传统流行病学研究方法结合,提高病因推断的可靠程度。线性/非线性MR、中介分析这些方法的广泛应用能够对肝癌的病因机制及其关联模式做进一步研究,优化干预与治疗策略。将药靶MR与共定位分析等其他方法的有效结合,能为药物研究提供初步证据,节省研发费用。总而言之,MR分析作为一种新兴有效的病因推断方法,能够填补传统流行病学研究方法的不足,今后在肝癌领域会朝着更可靠、更深入的方向发展。

利益冲突:所有作者均声明不存在利益冲突。

致谢:无。

作者贡献声明:无。

参考文献

1. 原发性肝癌诊疗指南(2022年版). 浙江实用医学. 2022;27:528-3610.
2. Llovet J M, Kelley R K, Villanueva A, *et al.* Hepatocellular carcinoma. *Nat Rev Dis Primers.* 2021;7:6.
3. Li S, Xu Y, Zhang Y, *et al.* Mendelian randomization analyses of genetically predicted circulating levels of cytokines with risk of breast cancer. *NPJ Precis Oncol.* 2020;4:25.
4. Barahona Ponce C, Scherer D, Brinster R, *et al.* Gallstones, body mass index, C-reactive protein, and gallbladder cancer: Mendelian randomization analysis of Chilean and European Genotype Data. *Hepatology.* 2021;73:1783-1796.
5. Ma J, Li J, Jin C, *et al.* Association of gut microbiome and primary liver cancer: A two-sample Mendelian randomization and case-control study. *Liver Int.* 2023;43: 221-233.
6. Clayton D, Mckeigue P M. Epidemiological methods for studying genes and environmental factors in complex diseases. *Lancet.* 2001;358:1356-1360.
7. Emdin C A, Khera A V, Kathiresan S. Mendelian randomization. *JAMA.* 2017;318: 1925-1926.
8. Katan M B. Apolipoprotein E isoforms, serum cholesterol, and cancer. *Lancet.* 1986;1:507-508.
9. 于天琦,徐文涛,苏雅娜,等.孟德尔随机化研究基本原理、方法和局限性. *中国循证医学杂志.* 2021;21:1227-1234.
10. CSCO生物统计学专家委员会RWS方法学组,高雪,薛付忠,黄丽红,等.孟德尔随机化模型及其规范化应用的统计学共识. *中国卫生统计.* 2021;38:471-475.
11. Pierce B L, Ahsan H, Vanderweele T J. Power and instrument strength requirements for Mendelian randomization studies using multiple genetic variants. *Int J Epidemiol.* 2011;40:740-752.
12. Lawlor D A, Harbord R M, Sterne J A, *et al.* Mendelian randomization: Using genes as instruments for making causal inferences in epidemiology. *Stat Med.* 2008;27:1133-1163.
13. Stearns F W. One hundred years of pleiotropy: A retrospective. *Genetics.* 2010;186: 767-773.
14. Verbanck M, Chen C Y, Neale B, *et al.* Detection of widespread horizontal pleiotropy in causal relationships inferred from Mendelian randomization between complex traits and diseases. *Nat Genet.* 2018;50: 693-698.
15. Bowden J, Davey Smith G, Burgess S. Mendelian randomization with invalid instruments: Effect estimation and bias detection through Egger regression. *Int J Epidemiol.* 2015;44:512-525.
16. George Davey S, Davies N M, Dimou N, *et al.* STROBE-MR: Guidelines for strengthening the reporting of Mendelian randomization studies. *PeerJ preprints.* 2019;10.7287/peerj.preprints.27857v1. <https://peerj.com/preprints/27857/>
17. Davies NM, Holmes MV, Davey Smith G. Reading Mendelian randomisation studies: A guide, glossary, and checklist for clinicians. *BMJ.* 2018;362:k601.
18. Im PK, Millwood IY, Kartsonaki C, *et al.* Alcohol drinking and risks of liver cancer and non-neoplastic chronic liver diseases in China: a 10-year prospective study of 0.5 million adults. *BMC Med.* 2021;19:216.
19. Petrick JL, Campbell PT, Koshiol J, *et al.* Tobacco, alcohol use and risk of hepatocellular carcinoma and intrahepatic cholangiocarcinoma: The Liver Cancer Pooling Project. *Br J Cancer.* 2018;118:1005-1012.
20. Liu Z, Song C, Suo C, *et al.* Alcohol consumption and hepatocellular carcinoma: Novel insights from a prospective cohort study and nonlinear Mendelian randomization analysis. *BMC Med.* 2022;20:413.
21. Deng Y, Huang J, Wong MCS. Associations between six dietary habits and risk of hepatocellular carcinoma: A Mendelian randomization study. *HepatoL Commun.* 2022;6:2147-2154.
22. Yuan S, Chen J, Ruan X, *et al.* Smoking, alcohol consumption, and 24 gastrointestinal diseases: Mendelian randomization analysis. *Elife.* 2023;12:e84051.
23. Bravi F, Tavani A, Bosetti C, Boffetta P, La Vecchia C. Coffee and the risk of hepatocellular carcinoma and chronic liver disease: A systematic review and meta-analysis of prospective studies. *Eur J Cancer Prev.* 2017;26:368-377.
24. Zhao LG, Li ZY, Feng GS, *et al.* Coffee drinking and cancer risk: an umbrella review of meta-analyses of observational studies. *BMC Cancer.* 2020;20:101.
25. Salomone F, Galvano F, Li Volti G. Molecular bases underlying the hepatoprotective effects of coffee. *Nutrients.* 2017;9:85.
26. Carter P, Yuan S, Kar S, *et al.* Coffee consumption and cancer risk: A Mendelian randomisation study. *Clin Nutr.* 2022;41:2113-2123.
27. Jin S, Je Y. Dairy Consumption and total cancer and cancer-specific mortality: A meta-analysis of prospective cohort studies. *Adv Nutr.* 2022;13:1063-1082.
28. Kakkoura MG, Du H, Guo Y, *et al.* Dairy consumption and risks of total and site-specific cancers in Chinese adults: an 11-year prospective study of 0.5 million people. *BMC Med.* 2022;20:134.
29. Lumsden AL, Mulugeta A, Hyppönen E. Milk consumption and risk of twelve cancers: A large-scale observational and Mendelian randomisation study. *Clin Nutr.* 2023;42:1-8.
30. Yun Z, Nan M, Li X, *et al.* Processed meat, red meat, white meat, and digestive tract cancers: A two-sample Mendelian randomization study. *Front Nutr.* 2023;10:1078963.
31. Yin L, Yan H, Chen K, *et al.* Diet-derived circulating antioxidants and risk of digestive system tumors: A mendelian randomization study. *Nutrients.* 2022;14:3274.
32. Ning D, Fang Y, Zhang W. Association of habitual sleep duration and its trajectory with the risk of cancer according to sex and body mass index in a population-based cohort. *Cancer.* 2023;129:3582-3594.
33. Yuan S, Mason AM, Titova OE, *et al.* Morning chronotype and digestive tract cancers: Mendelian randomization study. *Int J Cancer.* 2023;152:697-704.
34. Yang X, Wang J, Wang H. Association between sleep traits and primary liver cancer: A Mendelian randomization analysis. *Eur J Clin Invest.* 2023;53:e14002.
35. Vithayathil M, Carter P, Kar S, Mason AM, Burgess S, Larsson SC. Body size and composition and risk of site-specific cancers in the UK Biobank and large international consortia: A mendelian randomisation study. *PLoS Med.* 2021;18:e1003706.
36. Pang Y, Kartsonaki C, Lv J, *et al.* Observational and genetic associations of body mass index and hepatobiliary diseases

- in a relatively lean Chinese population. *JAMA Netw Open.* 2020;3:e2018721.
37. Fang Z, Giovannucci EL. The timing of adiposity and changes in the life course on the risk of cancer. *Cancer Metastasis Rev.* 2022;41:471-489.
38. Thomas CE, Diergaarde B, Kuipers AL, *et al.* NAFLD polygenic risk score and risk of hepatocellular carcinoma in an East Asian population. *Hepato Commun.* 2022;6:2310-2321.
39. Arano T, Nakagawa H, Tateishi R, *et al.* Serum level of adiponectin and the risk of liver cancer development in chronic hepatitis C patients. *Int J Cancer.* 2011;129:2226-2235.
40. Michikawa T, Inoue M, Sawada N, *et al.* Plasma levels of adiponectin and primary liver cancer risk in middle-aged Japanese adults with hepatitis virus infection: a nested case-control study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2013;22:2250-2257.
41. Jiang H, Hu D, Wang J, Zhang B, He C, Ning J. Adiponectin and the risk of gastrointestinal cancers in East Asians: Mendelian randomization analysis. *Cancer Med.* 2022;11:2397-2404.
42. He MM, Lo CH, Wang K, *et al.* Immune-mediated diseases associated with cancer risks. *JAMA Oncol.* 2022;8:209-219.
43. Huang J, Li X, Hong J, *et al.* Inflammatory bowel disease increases the risk of hepatobiliary pancreatic cancer: A two-sample Mendelian randomization analysis of European and East Asian populations. *Cancer Med.* 2023;12:13599-13609.
44. Zhang Y, Zhang Y, He P, Ge F, Huo Z, Qiao G. The genetic liability to rheumatoid arthritis may decrease hepatocellular carcinoma risk in East Asian population: A Mendelian randomization study. *Arthritis Res Ther.* 2023;25:49.
45. Hsu CS, Lang HC, Huang KY, Chao YC, Chen CL. Risks of hepatocellular carcinoma and cirrhosis-associated complications in patients with rheumatoid arthritis: A 10-year population-based cohort study in Taiwan. *Hepato Int.* 2018;12:531-543.
46. Lu L, Wan B, Li L, Sun M. Hypothyroidism has a protective causal association with hepatocellular carcinoma: A two-sample Mendelian randomization study. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2022;13:987401.
47. Tilg H, Adolph TE, Trauner M. Gut-liver axis: Pathophysiological concepts and clinical implications. *Cell Metab.* 2022;34:1700-1718.
48. Ma C, Han M, Heinrich B, *et al.* Gut microbiome-mediated bile acid metabolism regulates liver cancer via NKT cells. *Science.* 2018;360:eaan5931.
49. Wang Z, Lu J, Hu J. Association between antihypertensive drugs and hepatocellular carcinoma: A trans-ancestry and drug-target Mendelian randomization study. *Liver Int.* 2023;43:1320-1331.
50. Ziaecian B, Fonarow GC. Statins and the prevention of heart disease. *JAMA Cardiol.* 2017;2:464.
51. Chiu HF, Ho SC, Chen CC, Yang CY. Statin use and the risk of liver cancer: A population-based case-control study. *Am J Gastroenterol.* 2011;106:894-898.
52. Min Y, Wei X, Liu Z, *et al.* Assessing the role of lipid-lowering therapy on multi-cancer prevention: A mendelian randomization study. *Front Pharmacol.* 2023;14:1109580.
53. LeRoith D, Clemmons D, Nissley P, Rechler MM. NIH conference. Insulin-like growth factors in health and disease. *Ann Intern Med.* 1992;116:854-862.
54. Larsson SC, Carter P, Vithayathil M, Kar S, Mason AM, Burgess S. Insulin-like growth factor-1 and site-specific cancers: A Mendelian randomization study. *Cancer Med.* 2020;9:6836-6842.
55. Wu H, Ma T, Li D, He M, Wang H, Cui Y. Circulating vascular endothelial growth factor and cancer risk: A bidirectional mendelian randomization. *Front Genet.* 2022;13:981032.
56. Pan GQ, Yang CC, Shang XL, Dong ZR, Li T. The causal relationship between white blood cell counts and hepatocellular carcinoma: A Mendelian randomization study. *Eur J Med Res.* 2022;27:278.
-
- 引用本文 / Article Citation:
- 季军, 黄纪伟. 孟德尔随机化分析在肝癌病因探索中的研究进展. *医学新视角.* 2024;1(3):137-143. doi:10.5582/npjm.2024.01015
- Jun Ji, Jiwei Huang. Recent advances in the application of Mendelian randomization to liver cancer. *The New Perspectives Journal of Medicine.* 2024;1(3):137-143. doi:10.5582/npjm.2024.01015