

高密度脂蛋白胆固醇与结直肠癌关系的孟德尔随机化研究

袁晨东^{1,2}, 舒旭峰^{1,2}, 王小强^{1,2}, 揭志刚^{1,2}

Relationship Between High-Density Lipoprotein Cholesterol and Colorectal Cancer—A Mendelian Randomization Study

YUAN Chendong^{1,2}, SHU Xufeng^{1,2}, WANG Xiaoqiang^{1,2}, JIE Zhigang^{1,2}

1. Department of General Surgery, The First Affiliated Hospital, Jiangxi Medical College, Nanchang University, Nanchang 330006, China; 2. Medical Innovation Center, The First Affiliated Hospital, Jiangxi Medical College, Nanchang University, Nanchang 330006, China

Corresponding Author: JIE Zhigang, E-mail: jiezhg123@126.com

Abstract: Objective To elucidate the causal relationship between high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C) and colorectal cancer (CRC) through Mendelian randomization. **Methods** Mendelian randomization analysis was conducted using genetic instrumental variables selected from a genome-wide association study dataset. The main methods included inverse variance weighted, MR-Egger, weighted median, simple mode, and weighted mode method; among which, inverse variance weighted method served as the primary analytical approach. Sensitivity analyses were performed to verify the robustness of results. **Results** A total of 41 genetic instrumental variables associated with HDL-C were identified. Inverse variance weighted method ($OR=0.84$, 95% CI : 0.73-0.96, $P=0.01$) and weighted median method ($OR=0.82$, 95% CI : 0.67-0.99, $P=0.04$) indicated a negative correlation between genetically-determined HDL-C and CRC risk. Sensitivity analyses confirmed the absence of heterogeneity and horizontal pleiotropy ($P>0.05$). **Conclusion** A causal relationship exists between HDL-C and CRC risk, with rs1077834 as a potential key determinant in the influence of HDL-C on CRC risk.

Key words: High-density lipoprotein cholesterol; Colorectal cancer; Mendelian randomization

Funding: National Natural Science Foundation of China (No. 81960503)

Competing interests: The authors declare that they have no competing interests.

摘要: 目的 通过孟德尔随机化方法阐明高密度脂蛋白胆固醇 (HDL-C) 与结直肠癌 (CRC) 之间的因果关系。**方法** 使用全基因组关联研究数据集筛选遗传工具变量进行孟德尔随机化分析。主要包括五种方法: 逆方差加权法、孟德尔随机化Egger法、加权中位数法、简单模式法以及加权模式法, 其中逆方差加权法作为主要分析方法。敏感性分析验证结果的稳健性。**结果** 最终确定了41个与HDL-C相关的遗传工具变量。逆方差加权法 ($OR=0.84$, 95% CI : 0.73~0.96, $P=0.01$) 与加权中位数法 ($OR=0.82$, 95% CI : 0.67~0.99, $P=0.04$) 结果均表明遗传决定的HDL-C与CRC风险呈负相关。敏感性分析证明结果不存在异质性和水平多效性 ($P>0.05$)。**结论** HDL-C与CRC风险存在因果关系, rs1077834可能是HDL-C影响CRC风险的关键所在。

关键词: 高密度脂蛋白胆固醇; 结直肠癌; 孟德尔随机化

中图分类号: R735.3

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



0 引言

结直肠癌 (Colorectal cancer, CRC) 是消化道

常见肿瘤之一。据流行病学统计, 每年约有180万新发CRC病例和88万死亡病例, 约占癌症总人数和死亡人数的10%^[1]。CRC的发病率在人类发展指数高的国家或地区较高^[2]。随着生活水平的提升, 近年来, 有研究发现CRC的发病率增加与生活方式的改变有关, 其中包括吸烟、不良饮食等因素。这些因素与机体代谢紊乱密切相关。

高密度脂蛋白胆固醇 (HDL cholesterol, HDL-C) 通常被誉为“好胆固醇”, 在预防心血管疾病中

收稿日期: 2024-02-27; 修回日期: 2024-07-25

基金项目: 国家自然科学基金 (81960503)

作者单位: 1. 330006 南昌, 南昌大学第一附属医院普外科; 2. 330006 南昌, 南昌大学第一附属医院医学创新中心

通信作者: 揭志刚 (1960-), 男, 博士, 主任医师, 主要从事胃肠道肿瘤发病机制研究, E-mail: jiezhg123@126.com, ORCID: 0000-0002-6369-7306

作者简介: 袁晨东 (1995-), 男, 博士在读, 主要从事胃肠道肿瘤发病机制研究, ORCID: 0009-0005-9721-6266

扮演着关键角色。然而，在CRC的背景下，HDL-C的作用似乎更为复杂。一些流行病学研究发现，较高的HDL-C水平似乎与较低CRC风险相关^[3-4]。但这种关系并非绝对。有研究显示HDL-C与CRC之间并不存在显著关联^[5]。值得注意的是，目前的大部分证据源自于观察性研究，这些研究很容易受到混杂因素的影响，导致结果存在偏倚。因此，很难确定HDL-C与CRC之间是否存在因果关系。

孟德尔随机化（Mendelian randomization, MR）研究方法选用单核苷酸多态性（Single nucleotide polymorphism, SNP）作为遗传工具变量来推断因果关系^[6]。SNP在受孕时就被随机分配给后代，能极大程度上避免因混杂因素而产生偏倚。全基因组关联研究（Genome-wide association study, GWAS）汇总了大量与HDL-C以及CRC相关的SNP。基于此，本研究应用MR分析方法探讨HDL-C与CRC之间的因果关系，以期预防CRC提供更有利的证据。

1 资料与方法

1.1 MR设计

本研究选用HDL-C作为暴露因素，CRC视作结局因素。从GWAS数据库选出与暴露相关的SNP作为遗传工具变量，用于评估暴露与结局之间的因果关系。但作为工具变量的SNP必须满足MR三大核心假设^[7]：（1）SNP必须与暴露之间存在强关联；（2）SNP独立于任何可能影响暴露与结局之间的混杂因素；（3）SNP对因果的影响只能通过暴露来发挥作用。

1.2 资料来源

HDL-C的GWAS数据由密歇根大学公共卫生学院统计遗传学中心（Center for Statistical Genetics, CSG）发布。Teslovich等^[8]分析了超过10万名欧洲血统的个体，鉴定出与脂质特征显著相关的95个基因座，其中31个是与HDL-C相关的基因组，共包含2 692 429个SNP。CRC相关的遗传数据来源于GWAS摘要统计数据库。Huyghe等^[9]统计26 554名欧洲血统的个体，包括实验组11 895名和对照组14 659名，总共鉴定了38 370 461个SNP。

1.3 SNP的选择与评价

从上述资料来源中聚集与HDL-C具有全基因组显著关联性（ $P < 5 \times 10^{-8}$ ）的SNP。为了确保每个SNP的独立性，我们通过PLINK算法去除连锁不平衡，参数设置为 r^2 阈值0.001，遗传位点距离大于10 000 kb。此外，为了减少弱SNP对结果产生的潜在偏倚，本研究采用 F 统计量来评估每个SNP的效

应： $F = \beta^2 / SE^2$ ^[10]。 β 代表与HDL-C相关的SNP效应值， SE 代表 β 的标准误。去除 F 统计量小于10的弱SNP^[11]。随后将HDL-C与CRC的SNP进行协调处理，剔除回文序列，以确保它们在分析中的一致性。最终，纳入剩下的SNP作为工具变量进行MR分析。

1.4 MR分析

采用五种不同的MR方法，包括逆方差加权（Inverse variance weighted, IVW）、孟德尔随机化Egger法（Mendelian randomization Egger, MR-Egger）、加权中位数（Weighted median, WME）、简单模式（Simple mode, SM）和加权模式（Weight mode, WM），评估HDL-C与CRC之间的因果关系。IVW综合每个SNP的 $Wald$ 比率，在工具变量有效的条件下，能提供最准确的估计^[12]。若遗传工具变量通过暴露以外的途径影响结果，IVW可能产生偏倚。因此，MR-Egger方法可补充IVW，在回归模型中引入截距项以校正遗传工具变量偏倚，得出更稳定的结论。WME法在超过50%工具变量有效的情况下，能提供准确的因果估计。SM易受工具变量异质性影响，选择因果估计众数，可抵御部分无效工具变量。WM通过逆方差加权改进简单模式，适用于工具变量可靠性差异较大的数据集。当存在多效性时，这种方法非常有效。SM和WM在处理工具变量可靠性差异时能提供更好的因果估计，但其有效性依然有限。总体而言，本研究主要采用IVW方法评估HDL-C与CRC之间的因果关系，其他四种MR方法作为补充分析。五种方法的因果估计和置信区间显示在森林图中。

1.5 敏感性分析

为了确保结果的稳定性，本研究进行了几项敏感性分析，其中包括Cochran'Q检验、MR-Egger截距法、MR-PRESSO检验、留一法以及漏斗图。Cochran'Q检验用于评估SNP之间的异质性， $P < 0.05$ 证明它们之间存在异质性。MR-Egger截距法是通过截距项来检验SNP是否具有水平多效性，截距项绝对值大且 P 值小（ $P < 0.05$ ）表明SNP存在潜在的水平多效性。MR-PRESSO全局检验（MR-PRESSO global test）进一步评估水平多效性，使用MR-PRESSO离群值检验和失真检验来识别和去除离群SNP来校正水平多效性。留一法依次去除与暴露相关的每一个SNP并重复分析剩余SNP的效应值，判断单个SNP对效应值的影响。漏斗图对结果稳定性进行可视化评估。

本研究的MR分析采用R4.3.1版本中的“Two-

SampleMR”和“MR-PRESSO”包完成。

2 结果

2.1 SNP的选择

我们删除了4个回文SNP（rs4148008, rs7112577, rs881844, rs964184），最终确定了41个SNP用于本次MR分析，所有SNP的*F*统计量均大于10，分布范围24.836~431.203。表明本研究中不存在弱SNP，因果效应评估结果可靠。（SNP的基本信息请扫描本文OSID码）。

2.2 MR分析

IVW的结果说明遗传决定的HDL-C与CRC风险呈负相关，且具有统计学意义（*OR*=0.84，95%*CI*: 0.73~0.96，*P*=0.01）。WME法进一步证实了这种关联的可靠性（*OR*=0.82，95%*CI*: 0.67~0.99，*P*=0.04）。其余三种方法虽然没有观察到显著性意义（*P*>0.05），但结果与IVW估计方向具有一致性（*OR*<1），见图1~2。

2.3 敏感性分析

Cochran’Q检验结果表明SNP之间不存在异质性（MR-Egger法：*Q*=47.858，*P*=0.156；IVW：*Q*=48.960，*P*=0.157）。MR-Egger截距法（截距项为-0.008，*P*=0.349）和MR-PRSSO全局检验（残差平方和为51.233，*P*=0.163）均排除了SNP水平多效性的可能。留一法证实单个SNP对MR分析结果不会产生偏差，同时，rs1077834在被排除时，其估计值与整体估计值相比偏离最远，见图3。漏斗图展示出SNP的散点基本呈对称分布，证明了结果的稳定性，见图4。

3 讨论

本研究汇总了与HDL-C、CRC相关的公开的大规模GWAS数据集数据，通过严格的MR分析探讨HDL-C与CRC之间的因果关系。最终，本研究确定

了由遗传决定的HDL-C与CRC风险降低存在显著相关性，敏感性分析进一步证实了对二者之间因果判断的稳定性。

先前的研究已证明高水平的HDL-C会降低CRC的发病风险，这与本研究结果一致：在一项调整了年龄、性别、体重指数、糖尿病、吸烟等混杂因素的研究中，证实了每增加10 mg/dl的HDL-C，CRC的发病风险约降低36%^[13]；Yang等^[14]的一项荟萃分析中共纳入了24个前瞻性研究，包括4 224 317名个体和29 499个CRC病例，其结果显示高水平的血清HDL-C与CRC的发病率负相关（*RR*=0.86，95%*CI*: 0.77~0.97，*P*<0.05）；另有研究结果显示低HDL-C水平与包括CRC在内的多种癌症相关，而高HDL-C水平显著增加多数癌症患者的总生存期，降低癌症死亡率^[15]。但在许多研究中并未发现HDL-C与CRC之间的关联：Tian等^[16]的一项对血清脂质与结直肠肿瘤的荟萃分析中，没有观察到血清HDL-C与CRC之间的显著相关性；Tverdal等^[17]对250 010名挪威个体进行了平均18年的随访，仍未确定HDL-C与CRC之间的负相关关系。我们认为造成这种差异的现象源自于观察性研究的设计中存在着固有的混杂因素影响。值得注意的是，本研究选用MR分析方法可以最大程度减少混杂因素的影响，为因果关系提供更可靠的证据。

HDL-C降低CRC发病风险的具体机制尚未明确。目前，炎症-氧化应激被认为是影响肿瘤进展的关键因素。有研究表明血清HDL-C可以减少炎症细胞因子如白介素-6（Interleukin-6, IL-6）和肿瘤坏死因子-α的生成，抑制肿瘤细胞的生长与增殖^[18]。与此同时，HDL-C还可以提高细胞的抗氧化能力^[19-21]。例如通过增强细胞内抗氧化酶的活性，减少活性氧的生成保护细胞膜免受氧化损伤，减少氧化应激对细胞的破坏，从而间接抑制肿瘤的进展。此外，有学者尝试从免疫微环境的改变来揭示

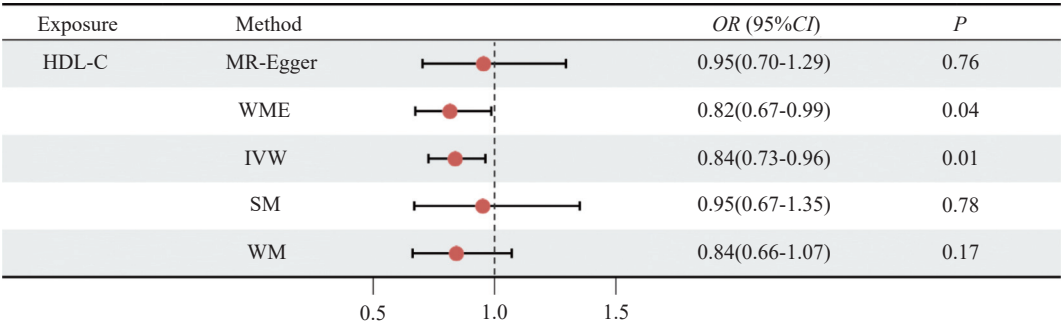


图 1 五种不同MR方法的研究结果森林图
Figure 1 Forest plot of results from five different Mendelian randomization

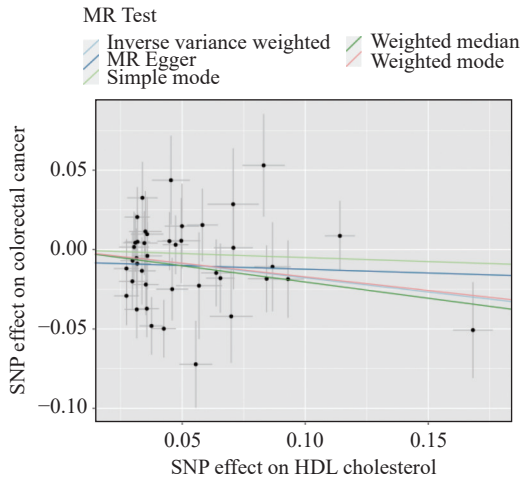


图2 MR分析结果的散点图

Figure 2 Scatter plot of MR analysis results

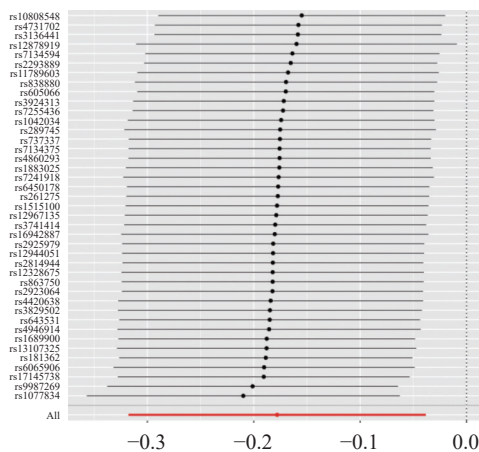


图3 留一法敏感性分析

Figure 3 Leave-one-out sensitivity analysis

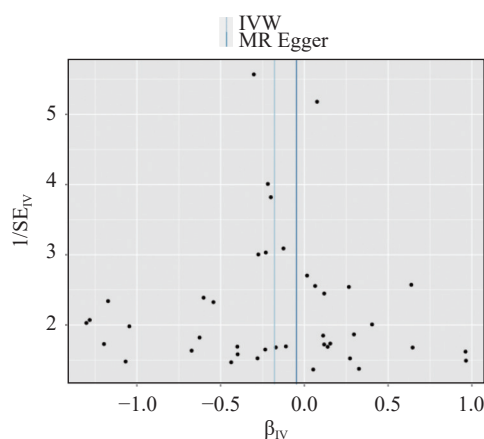


图4 MR分析结果的漏斗图

Figure 4 Funnel plot of MR analysis results

HDL-C抑制CRC进展的相关机制。Lee等研究表明HDL-C可以活化并募集CD8⁺T细胞，它能识别并杀死表达肿瘤特异性或肿瘤相关抗原的癌细胞^[22]。载脂蛋白A1 (Apolipoprotein A1, apoA1) 是HDL-C

的主要蛋白质成分，Zamanian-Daryoush等^[23]在小鼠肿瘤模型中证实apoA1可调控巨噬细胞表型，促进M2型巨噬细胞向M1型巨噬细胞转变，显著减少肿瘤生长和转移。

本研究在留一法中还发现位于15号染色体的rs1077834可能是HDL-C作为CRC保护因素的关键。与其最相近的基因是肝脏蛋白脂酶 (Liver lipase, *LIPC*) 与醛脱氢酶1家族成员A2 (Aldehyde dehydrogenase 1 family member A2, *ALDH1A2*)。 *LIPC*已被证实与HDL-C代谢相关，而 *ALDH1A2*基因在许多生物学过程中起作用，其中最重要的是维生素A代谢，它能催化视黄醇转化为视黄酸^[24]。一些流行病学研究表明高维生素A摄入与降低某些类型癌症 (包括CRC) 的风险相关^[25-26]。视黄酸是维生素A的活性形式，它通过调节特定基因的表达来影响细胞的分化和增殖。在CRC中，正常的细胞分化过程可能受到干扰，而视黄酸通过促进分化和控制增殖，有助于抑制癌细胞的发展^[27]。有研究显示视黄酸能够诱导癌细胞程序性死亡，防止癌细胞过度增殖^[28-30]。最近，Villéger等^[31]的一项研究证明靶向调控CRC相关成纤维细胞中维生素A代谢，能显著下调IL-6的表达，抑制CRC进展。此外，维生素A的代谢过程 (如从β-胡萝卜素转化为视黄醇的过程) 可能受到脂质水平的影响。因此，血清内高HDL-C水平或许通过调节维生素A的代谢从而影响CRC进展，但其中的具体机制尚不明确，还需要进一步的实验进行验证。

总的来说，本研究有以下几个优点：首先，本研究选用的遗传工具变量来源于公开的大规模GWAS数据集，这对因果效应的估计值具有较高的效能；其次，严格的MR分析方法较大程度地降低了混杂因素的影响，为因果关系的评判提供了稳定且可靠的证据。本研究也存在一定的局限性：其一，本研究仅基于MR分析结果提出了一个假设，仍需今后的实验进行论证；其二，本研究所选取的SNP均来源于欧洲血统个体，导致研究结果难以推广到多样化的种群中。

综上所述，本文通过使用MR分析探讨HDL-C与CRC之间的因果关系，结果显示遗传决定的HDL-C与CRC风险降低存在显著相关性，rs1077834可能是HDL-C影响CRC风险的关键所在，血清内高水平的HDL-C或许通过调节维生素A代谢从而抑制CRC进展。

利益冲突声明：

所有作者均声明不存在利益冲突。

参考文献:

- [1] Rawla P, Sunkara T, Barsouk A. Epidemiology of colorectal cancer: incidence, mortality, survival, and risk factors[J]. *Prz Gastroenterol*, 2019, 14(2): 89-103.
- [2] Sung H, Ferlay J, Siegel RL, *et al*. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries[J]. *CA Cancer J Clin*, 2021, 71(3): 209-249.
- [3] Pedersen KM, Çolak Y, Bojesen SE, *et al*. Low high-density lipoprotein and increased risk of several cancers: 2 population-based cohort studies including 116, 728 individuals[J]. *J Hematol Oncol*, 2020, 13(1): 129.
- [4] Zeljkovic A, Vekic J, Mihajlovic M, *et al*. Revealing the Role of High-Density Lipoprotein in Colorectal Cancer[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(7): 3352.
- [5] Fang Z, He M, Song M. Serum lipid profiles and risk of colorectal cancer: a prospective cohort study in the UK Biobank[J]. *Br J Cancer*, 2021, 124(3): 663-670.
- [6] Richmond RC, Davey Smith G. Mendelian Randomization: Concepts and Scope[J]. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 2022, 12(1): a040501.
- [7] Boef AG, Dekkers OM, Le Cessie S. Mendelian randomization studies: a review of the approaches used and the quality of reporting[J]. *Int J Epidemiol*, 2015, 44(2): 496-511.
- [8] Teslovich TM, Musunuru K, Smith AV, *et al*. Biological, clinical and population relevance of 95 loci for blood lipids[J]. *Nature*, 2010, 466(7307): 707-713.
- [9] Huyghe JR, Bien SA, Harrison TA, *et al*. Discovery of common and rare genetic risk variants for colorectal cancer[J]. *Nat Genet*, 2019, 51(1): 76-87.
- [10] Bowden J, Del Greco MF, Minelli C, *et al*. Improving the accuracy of two-sample summary-data Mendelian randomization: moving beyond the NOME assumption[J]. *Int J Epidemiol*, 2019, 48(3): 728-742.
- [11] Sanderson E, Spiller W, Bowden J. Testing and correcting for weak and pleiotropic instruments in two-sample multivariable Mendelian randomization[J]. *Stat Med*, 2021, 40(25): 5434-5452.
- [12] Slob E AW, Burgess S. A comparison of robust Mendelian randomization methods using summary data[J]. *Genet Epidemiol*, 2020, 44(4): 313-329.
- [13] Jafri H, Alsheikh-Ali AA, Karas RH. Baseline and on-treatment high-density lipoprotein cholesterol and the risk of cancer in randomized controlled trials of lipid-altering therapy[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2010, 55(25): 2846-2854.
- [14] Yang Z, Tang H, Lu S, *et al*. Relationship between serum lipid level and colorectal cancer: a systemic review and meta-analysis[J]. *BMJ Open*, 2022, 12(6): e052373.
- [15] Ganjali S, Banach M, Pirro M, *et al*. HDL and cancer-causality still needs to be confirmed? Update 2020[J]. *Semin Cancer Biol*, 2021, 73: 169-177.
- [16] Tian Y, Wang K, Li J, *et al*. The association between serum lipids and colorectal neoplasm: a systemic review and meta-analysis[J]. *Public Health Nutr*, 2015, 18(18): 3355-3370.
- [17] Tverdal A, Høiseth G, Magnus P, *et al*. Alcohol Consumption, HDL-Cholesterol and Incidence of Colon and Rectal Cancer: A Prospective Cohort Study Including 250, 010 Participants[J]. *Alcohol Alcohol*, 2021, 56(6): 718-725.
- [18] El-Mikkawy DME, El-Sadek MA, El-Badawy MA, *et al*. Circulating level of interleukin-6 in relation to body mass indices and lipid profile in Egyptian adults with overweight and obesity[J]. *Egypt Rheumatol Rehabil*, 2020, 47: 7.
- [19] Mladenov M, Lubomirov L, Grisk O, *et al*. Oxidative Stress, Reductive Stress and Antioxidants in Vascular Pathogenesis and Aging[J]. *Antioxidants (Basel)*, 2023, 12(5): 1126.
- [20] Zhang C, Zhai T, Zhu J, *et al*. Research Progress of Antioxidants in Oxidative Stress Therapy after Spinal Cord Injury[J]. *Neurochem Res*, 2023, 48(12): 3473-3484.
- [21] Iqbal MJ, Kabeer A, Abbas Z, *et al*. Interplay of oxidative stress, cellular communication and signaling pathways in cancer[J]. *Cell Commun Signal*, 2024, 22(1): 7.
- [22] Lee JS, Won HS, Sun DS, *et al*. Prognostic role of tumor-infiltrating lymphocytes in gastric cancer: A systematic review and meta-analysis[J]. *Medicine (Baltimore)*, 2018, 97(32): e11769.
- [23] Zamanian-Daryoush M, Lindner D, Tallant TC, *et al*. The cardioprotective protein apolipoprotein A1 promotes potent anti-tumorigenic effects[J]. *J Biol Chem*, 2013, 288(29): 21237-21252.
- [24] Thompson B, Katsanis N, Apostolopoulos N, *et al*. Genetics and functions of the retinoic acid pathway, with special emphasis on the eye[J]. *Hum Genomics*, 2019, 13(1): 61.
- [25] Luo H, Fang YJ, Lu MS, *et al*. Dietary and serum vitamins A and E and colorectal cancer risk in Chinese population: a case-control study[J]. *Eur J Cancer Prev*, 2019, 28(4): 268-277.
- [26] Han X, Zhao R, Wang Y, *et al*. Dietary Vitamin A Intake and Circulating Vitamin A Concentrations and the Risk of Three Common Cancers in Women: A Meta-Analysis[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2022, 2022: 7686405.
- [27] Imajo M. Analysis of Retinoic Acid Receptor Signaling in Colorectal Cancer[J]. *Methods Mol Biol*, 2019, 2019: 85-93.
- [28] Castiello L, Zevini A, Vulpis E, *et al*. An optimized retinoic acid-inducible gene I agonist M8 induces immunogenic cell death markers in human cancer cells and dendritic cell activation[J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2019, 68(9): 1479-1492.
- [29] Bi G, Liang J, Bian Y, *et al*. The immunomodulatory role of all-trans retinoic acid in tumor microenvironment[J]. *Clin Exp Med*, 2023, 23(3): 591-606.
- [30] Lavudi K, Nuguri SM, Olverson Z, *et al*. Targeting the retinoic acid signaling pathway as a modern precision therapy against cancers[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2023, 11: 1254612.
- [31] Villéger R, Chulkina M, Mifflin RC, *et al*. Disruption of retinol-mediated IL-6 expression in colon cancer-associated fibroblasts: new perspectives on the role of vitamin A metabolism[J]. *Oncotarget*, 2023, 14: 377-381.

[编辑: 安凤; 校对: 黄国玲]

作者贡献:

袁晨东: 研究设计、数据整理与分析、论文撰写
舒旭峰、王小强、揭志刚: 论文校对、数据收集