

基于甾醇酯与肝内导管、胆道和胆囊恶性肿瘤发生的因果关系的 孟德尔随机化分析

周先雷¹, 闫子默², 郭力雯², 张雪梅^{1,2}

(1. 华北理工大学公共卫生学院分子遗传学研究室, 河北 唐山 063210; 2. 华北理工大学生命科学学院
分子遗传学研究室, 河北 唐山 063210)

[摘 要] **目的:** 采用两样本孟德尔随机化 (MR) 分析, 探讨甾醇酯与肝内导管、胆道和胆囊恶性肿瘤发生的因果关联, 为甾醇酯的生物学机制研究以及探索肝内导管、胆道和胆囊恶性肿瘤的早期防治提供依据。**方法:** 15 种不同种类的甾醇酯特征的工具变量数据来自芬兰数据库 (FinnGen), 肝内导管、胆道和胆囊恶性肿瘤全基因组数据来自全基因组关联研究 (GWAS) 数据库, 以甾醇酯、肝内导管、胆道和胆囊恶性肿瘤为关键词进行检索, 下载编号为 ICD-O-3 和 GCST90277238-GCST9027725, 采用逆方差加权法 (IVW)、MR-Egger 回归法和加权中位数 (WM) 法评价甾醇酯与肝内导管、胆道和胆囊恶性肿瘤发生的因果关联, 采用 MR-Egger 截距法进行多效性检验, Cochran Q 检验进行异质性检验, 留一法进行敏感性分析, 综合评估结果的可靠性和稳健性。**结果:** IVW 分析, 甾醇酯 (27:1/14:0) [比值比 (OR) = 2.349, 95% 置信区间 (CI) = 1.371~4.025, $P=0.002$]、甾醇酯 (27:1/16:0) (OR = 1.248, 95% CI = 1.018~1.523, $P=0.033$)、甾醇酯 (27:1/18:2) (OR = 1.361, 95% CI = 1.078~1.718, $P=0.009$) 和甾醇酯 (27:1/22:6) (OR = 1.339, 95% CI = 1.001~1.791, $P=0.049$) 增加患肝内导管、胆道和胆囊恶性肿瘤的风险。MR-Egger 回归分析, 甾醇酯 (27:1/18:2) (OR = 2.038, 95% CI = 1.337~3.105, $P=0.011$) 是肝内导管、胆道和胆囊恶性肿瘤的危险因素。WM 分析, 甾醇酯 (27:1/14:0) (OR = 2.786, 95% CI = 1.419~5.468, $P=0.003$), 甾醇酯 (27:1/18:2) (OR = 1.548, 95% CI = 1.148~2.088, $P=0.004$) 是肝内导管、胆道和胆囊恶性肿瘤的危险因素。MR-Egger 截距分析和 Cochran Q 检验, 本研究无水平多效性和异质性。留一法敏感性分析未发现影响较大的异常单核苷酸多态性 (SNPs), 确保本研究可靠性。**结论:** 甾醇酯 (27:1/14:0)、甾醇酯 (27:1/16:0)、甾醇酯 (27:1/18:2) 和甾醇酯 (27:1/22:6) 与肝内导管、胆道和胆囊恶性肿瘤之间存在因果关联且促进该类恶性肿瘤的发生发展。

[关键词] 甾醇酯; 肝内导管; 胆道; 胆囊; 恶性肿瘤; 孟德尔随机化

[中图分类号] R735 **[文献标志码]** A

[收稿日期] 2024-07-29 [录用日期] 2024-09-29

[基金项目] 河北省科技厅自然科学基金重点项目 (HE2023105018); 河北省唐山市科技局科技计划项目 (23130232E)

[作者简介] 周先雷 (1998—), 男, 四川省巴中市人, 在读硕士研究生, 主要从事恶性肿瘤病因方面的研究。

[通信作者] 张雪梅, 教授, 博士研究生导师 (E-mail: zhangxuemei@ncst.edu.cn)

©《吉林大学学报 (医学版)》编辑部, 开放获取遵循 CC BY-NC-ND 协议。

© Editorial Board of Journal of Jilin University (Medicine Edition). Open access under CC BY-NC-ND license.

Mendelian randomization analysis based on causal association of sterol esters with occurrence of intrahepatic ductal, biliary, and gallbladder malignancy

ZHOU Xianlei¹, YAN Zimo², GUO Liwen², ZHANG Xuemei^{1,2}

(1. Laboratory of Molecular Genetics, School of Public Health, North China University of Science and Technology, Tangshan 063210, China; 2. Laboratory of Molecular Genetics, School of Life Sciences, North China University of Science and Technology, Tangshan 063210, China)

ABSTRACT Objective: To discuss the causal association between sterol esters and intrahepatic duct, biliary tract, and gallbladder malignancies using two-sample Mendelian randomization (MR) analysis, and to clarify the biological mechanisms of sterol esters, and to provide the a basis for early prevention and treatment of these malignancies. **Methods:** The instrumental variable data for 15 different types of sterol ester traits were obtained from the Finnish database (FinnGen). The genome-wide association study (GWAS) data for intrahepatic duct, biliary tract, and gallbladder malignancies were retrieved from the GWAS database using the keywords “sterol ester” and “intrahepatic duct, biliary tract, and gallbladder malignancies” (accession numbers: ICD-O-3 and GCST90277238-GCST9027725). The inverse-variance weighted (IVW) method, MR-Egger regression, and weighted median (WM) method were used to assess the causal association between sterol esters and the risk of these malignancies. Pleiotropy was tested using the MR-Egger intercept method; heterogeneity was evaluated using Cochran’s Q test; and sensitivity analysis was performed using the leave-one-out approach to comprehensively assess the reliability and robustness of the results. **Results:** The IVW analysis results showed that Sterol ester (27:1/14:0) odds ratio(OR)=2.349, 95% confidence interval (CI)=1.371–4.025, $P=0.002$, Sterol ester(27:1/16:0) (OR=1.248, 95%CI=1.018–1.523, $P=0.033$), Sterol ester (27:1/18:2) (OR=1.361, 95%CI=1.078–1.718, $P=0.009$), and Sterol ester (27:1/22:6) (OR=1.339, 95%CI=1.001–1.791, $P=0.049$) were associated with an increased risk of intrahepatic duct, biliary tract, and gallbladder malignancies. The MR-Egger regression analysis results indicated that Sterol ester (27:1/18:2) (OR=2.038, 95%CI=1.337–3.105, $P=0.011$) was a risk factor for these malignancies. The WM analysis results revealed that Sterol ester (27:1/14:0) (OR=2.786, 95%CI=1.419–5.468, $P=0.003$) and Sterol ester (27:1/18:2) (OR=1.548, 95%CI=1.148–2.088, $P=0.004$) were also risk factors. The MR-Egger intercept analysis and Cochran’s Q test results indicated no significant horizontal pleiotropy or heterogeneity. The leave-one-out sensitivity analysis did not identify any influential outlier single nucleotide polymorphism (SNPs), confirming the reliability of the study. **Conclusion:** Sterol ester (27:1/14:0), Sterol ester (27:1/16:0), Sterol ester (27:1/18:2), and Sterol ester (27:1/22:6) exhibit causal associations with intrahepatic duct, biliary tract, and gallbladder malignancies and may promote their development.

KEYWORDS Sterol ester; Intrahepatic duct; Biliary tract; Gallbladder; Malignancy; Mendelian randomization

肝内导管和胆道癌起源于肝内胆管的上皮细胞, 是第二常见的原发性肝恶性肿瘤且患者预后较差^[1], 其5年生存率为21%~35%^[2]。胆囊癌是胆道系统中常见的肿瘤, 由于其特殊的生长位置和症状不明显的特点, 因此多数胆囊癌多在晚期被发现

且患者预后差, 胆囊癌患者的5年生存率不足5%^[3]。近年来影响肝内导管、胆道和胆囊恶性肿瘤发生发展的因素逐渐被发现, 包括吸烟、饮酒、肥胖、病毒和细菌感染^[4-5]。尽管目前已经采用了多种方法和手段来推进肝内导管、胆道和胆囊恶性

肿瘤诊断及治疗,但患者生存预后仍然较差。目前,肝内导管、胆道和胆囊恶性肿瘤的发生发展的病因及其发病机制尚未完全清楚^[6]。

甾醇是多数哺乳动物、植物和真菌中一类关键的脂质。在真核脂滴中,甾醇3-羟基通常与脂肪酸酯化,形成甾醇酯,充当甾醇储存池,其是脂质体的一种,也是细胞内脂滴的重要成分^[7]。甾醇酯在维生素和类固醇激素的膜成分及前体形成中发挥重要作用^[8]。甾醇酯的合成和分解在甾醇稳态中发挥重要的作用,游离胆固醇池和酯化胆固醇池之间的不平衡与多种人类疾病有关,可导致肥胖、糖尿病和动脉粥样硬化等^[9-11]。研究^[12-15]显示:血清中甾醇酯影响癌症的发生发展,包括乳腺癌、结直肠癌、胆管癌和胆囊癌等。但有关甾醇酯与肝内导管、胆道和胆囊恶性肿瘤发生的因果关系尚未完全阐明。

随着DNA测序技术和流行病学的发展,孟德尔随机化(Mendelian randomization, MR)分析成为遗传流行病学研究中的一种常见的方法,其利用单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphisms, SNPs)作为工具变量,MR评估暴露对结局的因果影响,为暴露与疾病风险之间的因果关系提供了有力证据^[16],近年来,已有国内外研究^[17-19]使用MR分析探讨脂质体与疾病发生的因果关系,包括血浆脂质体与心脏代谢紊乱疾病、乳腺癌和肺癌等因果关系等。鉴于目前对甾醇酯与肝内导管、胆道和胆囊恶性肿瘤因果关系的理解有限,本研究采用两样本MR研究方法,探讨血清中不同结构甾醇酯与肝内导管、胆道和胆囊恶性肿瘤发生的因果关系,从而为肝内导管、胆道和胆囊恶性肿瘤的预防及治疗提供依据。

1 资料与方法

1.1 研究设计 本研究采用两样本MR分析,探讨不同种类甾醇酯与肝内导管、胆道和胆囊恶性肿瘤发生的因果关系。将不同结构甾醇酯视为暴露因素,并使用与上述甾醇酯显著相关的SNPs作为工具变量。肝内导管、胆道和胆囊恶性肿瘤的发生作为结局变量。通过两样本MR分析,对结果进行异质性、多效性和敏感性分析,以确保研究结果的可靠性和精确性。

1.2 数据来源 本研究使用的全基因组关联研究(genome-wide association study, GWAS)汇总数据来源于芬兰数据库 FinnGen (<https://www.finnngen.fi/en>),版本号:R9,编号:ICD-O-3。15种甾醇酯GWAS数据来源于GWAS Catalog数据库(<https://www.ebi.ac.uk/gwas/>, GCST90277238-GCST90277252),由OTTENS MANN等^[17]在2023年发布,研究纳入了174名芬兰人,检测15种血清中甾醇酯水平。肝内导管、胆道和胆囊恶性肿瘤的GWAS数据纳入了1 081例患者和287 137名健康对照,SNPs数量为20 167 537个。研究人群为芬兰人群,排除因种族相关混杂因素造成的偏差。

1.3 工具变量 为了筛选合格的工具变量,本研究选择与暴露因素强相关($P < 5 \times 10^{-6}$)的SNPs进行MR分析,以探讨不同种类甾醇酯引起肝内导管、胆道和胆囊恶性肿瘤的潜在因果关联。同时,为排除连锁不平衡(linkage disequilibrium, LD)偏倚问题,设定连锁不平衡系数 r^2 的阈值为0.001,区域宽度为10 000 kb。汇总暴露因素与结局的数据集信息,剔除暴露因素中与结局变量强相关的SNPs($P < 5 \times 10^{-6}$)。

1.4 统计学分析 采用R 4.3.1统计软件进行统计学分析。采用的软件包为“TwoSampleMR版本号0.5.7”包。MR分析严格遵循以下3个关键假设:①相关性假设,即SNP与暴露之间存在强相关;②排他性假设,即SNP与结局无关;③独立性假设,即SNP与混淆因素无关。基于上述3个关键假设,本研究采用逆方差加权(inverse variance weighted, IVW)法、MR-Egger线性回归和加权中位数(weighted median, WM)法计算出比值比(odds ratio, OR)来评估不同种类甾醇酯引起肝内导管、胆道和胆囊恶性肿瘤发生的因果关联,OR>1即为暴露是结局危险因素,OR<1为保护因素。采用Cochran Q检验法检验SNP的异质性,留一法进行敏感性分析来评估结果的稳健性,MR-Egger截距法检验水平多效性。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。为减少多次重复测量产生的数据偏倚,多重假设检验 P 值均进行错误发现率(false discovery rate, FDR)校正。

2 结果

2.1 遗传工具变量选择 根据GWAS中的校验水准,以 $P < 5 \times 10^{-6}$ 为筛选标准,挑选出15种不同种类的甾醇酯工具变量,并从中筛选出4 504个符合标准的工具变量。设置独立性参数,其中连锁不平衡系数 r^2 设为0.001,连锁不平衡区域宽度为

10 000 kb, 从而获得 106 个符合筛选标准的 SNPs。随后, 在肝内导管、胆道和胆囊恶性肿瘤的遗传数据中找到初步筛选出的 70 个工具变量。删除与肝内导管、胆道和胆囊恶性肿瘤强相关的 SNPs 和回文序列。最终, 每种甾醇酯工具变量的筛选数量为 1~17。见表 1。

表 1 与甾醇酯相关的工具变量信息

Tab. 1 Informations of instrumental variables related to sterol esters

Exposed sterol ester	SNP count	SNP exposure			SNP outcome		
		β	SE	P	β	SE	P
(27:1/14:0)	3	−0.186	0.038	1.15E-08	−0.187	0.103	0.070
		0.142	0.021	7.00E-11	0.163	0.058	0.005
		−0.087	0.017	5.87E-09	−0.025	0.043	0.556
(27:1/16:0)	16	−0.010	0.019	1.39E-08	0.057	0.052	0.270
		−0.085	0.017	8.48E-09	−0.025	0.043	0.569
		−0.390	0.046	7.69E-13	−0.213	0.118	0.072
		−0.105	0.019	2.34E-09	0.062	0.050	0.220
		−0.209	0.028	7.31E-12	0.046	0.072	0.528
		0.109	0.018	4.73E-10	−0.004	0.048	0.930
		0.330	0.051	9.26E-11	0.133	0.122	0.276
		−0.206	0.017	5.93E-16	0.000	0.044	0.995
		−0.222	0.037	4.60E-10	−0.187	0.103	0.070
		−0.286	0.053	2.74E-09	−0.008	0.140	0.955
		0.086	0.017	6.15E-09	−0.020	0.044	0.642
		−0.010	0.019	1.09E-08	−0.042	0.050	0.400
		−0.407	0.037	4.31E-15	−0.227	0.089	0.011
		0.247	0.044	1.57E-09	0.018	0.118	0.879
(27:1/16:1)	6	0.224	0.041	2.17E-09	0.043	0.109	0.690
		−0.085	0.017	1.30E-08	−0.103	0.044	0.019
		0.084	0.017	1.41E-08	−0.053	0.044	0.236
		−0.259	0.052	1.39E-08	0.149	0.150	0.319
		−0.090	0.017	6.07E-09	−0.032	0.046	0.478
		−0.204	0.037	2.14E-09	−0.187	0.103	0.070
		−0.108	0.021	7.78E-09	0.175	0.054	0.001
(27:1/17:0)	4	−0.156	0.026	4.10E-10	−0.111	0.068	0.105
		−0.125	0.024	6.15E-09	0.117	0.062	0.059
		0.086	0.017	1.10E-08	−0.025	0.044	0.571
		−0.085	0.017	1.24E-08	−0.018	0.044	0.686
(27:1/17:1)	1	0.122	0.022	1.33E-09	0.163	0.058	0.005
		−0.198	0.037	3.71E-09	−0.187	0.103	0.070
		−0.198	0.037	3.71E-09	−0.187	0.103	0.070
(27:1/18:0)	8	0.495	0.090	1.91E-09	−0.009	0.230	0.968
		0.097	0.018	2.08E-09	−0.096	0.047	0.039
		−0.109	0.020	1.75E-09	0.057	0.051	0.265
		−0.111	0.017	7.09E-11	−0.018	0.044	0.686
		0.134	0.021	2.11E-10	0.163	0.058	0.005
		−0.104	0.019	1.63E-09	0.004	0.049	0.936
		−0.154	0.021	7.95E-12	−0.006	0.054	0.917
		−0.104	0.019	2.52E-09	−0.042	0.050	0.400
(27:1/18:1)	11	−0.106	0.019	2.51E-09	0.057	0.052	0.270

续表

Exposed sterol ester	SNP count	SNP exposure			SNP outcome		
		β	SE	P	β	SE	P
(27:1/18:2)	10	0.234	0.045	5.23E-09	−0.045	0.118	0.704
		0.295	0.060	1.38E-08	0.095	0.156	0.544
		−0.298	0.047	1.24E-10	−0.213	0.118	0.072
		−0.172	0.028	2.96E-10	0.046	0.072	0.528
		−0.210	0.037	1.25E-09	−0.187	0.103	0.070
		0.338	0.053	1.29E-10	−0.142	0.138	0.304
		−0.290	0.057	8.41E-09	0.081	0.153	0.596
		−0.107	0.020	2.65E-09	−0.051	0.051	0.318
		−0.281	0.037	5.37E-12	−0.227	0.089	0.011
		0.263	0.044	4.77E-10	0.018	0.118	0.879
		−0.358	0.047	4.08E-12	−0.213	0.118	0.072
		−0.097	0.019	9.25E-09	0.062	0.050	0.220
		0.346	0.051	4.10E-11	0.135	0.122	0.272
		−0.194	0.028	3.32E-11	0.046	0.072	0.528
		0.239	0.047	9.88E-09	0.058	0.128	0.654
		0.104	0.019	1.74E-09	−0.023	0.049	0.638
(27:1/18:3)	8	−0.216	0.037	7.93E-10	−0.187	0.103	0.070
		−0.464	0.037	3.51E-16	−0.227	0.089	0.011
		0.284	0.041	2.71E-11	0.043	0.109	0.690
		−0.123	0.022	2.10E-09	−0.052	0.059	0.378
		−0.217	0.089	4.00E-09	0.089	0.103	0.389
		−0.105	−0.032	3.65E-10	−0.032	0.046	0.478
		−0.183	−0.006	6.09E-15	−0.006	0.044	0.890
		−0.240	−0.187	1.12E-10	−0.187	0.103	0.070
(27:1/20:2)	6	0.093	−0.046	2.11E-09	−0.046	0.045	0.300
		0.259	0.049	1.65E-08	0.049	0.133	0.711
		−0.191	−0.227	7.28E-09	−0.227	0.089	0.011
		−0.085	−0.025	8.53E-09	−0.025	0.043	0.556
		−0.102	0.020	8.69E-09	0.057	0.047	0.227
		−0.256	0.022	1.20E-15	0.013	0.052	0.806
		0.162	0.024	3.73E-11	0.163	0.058	0.005
		−0.211	0.032	6.61E-11	−0.132	0.072	0.066
(27:1/20:3)	11	0.099	0.020	1.20E-08	0.095	0.046	0.039
		0.106	0.020	3.35E-09	−0.016	0.047	0.731
		0.289	0.059	1.62E-08	−0.047	0.134	0.728
		−0.226	0.018	2.96E-16	−0.038	0.047	0.412
		−0.239	0.037	1.21E-10	−0.187	0.103	0.070
		0.285	0.053	3.09E-09	−0.142	0.138	0.304
		−0.236	0.038	2.05E-10	−0.520	0.085	0.000
		−0.245	0.042	5.95E-10	−0.109	0.107	0.309
		0.112	0.018	3.06E-10	0.006	0.047	0.893
		0.083	0.017	1.28E-08	−0.008	0.044	0.863
		0.085	0.017	9.67E-09	0.016	0.044	0.707
		−0.203	0.037	2.51E-09	−0.227	0.089	0.011
		0.272	0.054	9.26E-09	−0.033	0.137	0.812

续表

Exposed sterol ester	SNP count	SNP exposure			SNP outcome		
		β	SE	P	β	SE	P
(27:1/20:4)	9	-0.101	0.018	1.04E-09	-0.038	0.047	0.412
		-0.297	0.046	1.12E-10	-0.213	0.118	0.072
		0.178	0.035	9.57E-09	0.068	0.102	0.503
		-0.659	0.015	2.35E-26	0.000	0.044	0.995
		0.296	0.052	1.30E-09	-0.142	0.138	0.304
		-0.414	0.077	3.23E-09	0.252	0.237	0.286
		0.165	0.021	2.92E-12	0.005	0.056	0.924
		-0.344	0.066	4.66E-09	0.412	0.181	0.023
		-0.310	0.037	7.25E-13	-0.227	0.089	0.011
(27:1/20:5)	5	-0.086	0.017	7.53E-09	-0.025	0.043	0.569
		-0.411	0.016	6.02E-22	-0.001	0.044	0.987
		-0.085	0.017	6.97E-09	0.021	0.043	0.622
		-0.158	0.029	1.84E-09	-0.193	0.071	0.007
		0.110	0.020	1.56E-09	-0.034	0.051	0.503
(27:1/22:6)	8	-0.205	0.038	3.31E-09	-0.025	0.043	0.569
		-0.238	0.047	8.55E-09	-0.001	0.044	0.987
		-0.175	0.035	1.39E-08	0.021	0.043	0.622
		-0.201	0.017	9.93E-16	-0.193	0.071	0.007
		-0.093	0.017	2.87E-09	-0.034	0.051	0.503
		-0.269	0.037	1.31E-11	-0.025	0.043	0.569
		0.259	0.050	5.90E-09	-0.001	0.044	0.987
		-0.268	0.054	1.11E-08	0.021	0.043	0.622

β : Effect values for alleles; SE: Standard error of β .

2.2 甾醇酯对肝内导管、胆道和胆囊恶性肿瘤发生的因果关系 MR 结果 MR 分析和 IVW 分析结果显示：甾醇酯（27:1/14:0）[OR=2.349, 95% 置信区间(confidence interval, CI)=1.371~4.025, $P=0.002$]、甾醇酯（27:1/16:0）(OR=1.248, 95%CI=1.018~1.523, $P=0.033$)、甾醇酯（27:1/18:2）(OR=1.361, 95%CI=1.078~1.718, $P=0.009$) 和甾醇酯(27:1/22:6)(OR=1.339,95%CI=1.001~1.791, $P=0.049$) 增加患肝内导管、胆道及胆囊恶性肿瘤的风险。MR-Egger 回归分析结果显示：甾醇酯(27:1/18:2) (OR=2.038, 95%CI=1.337~3.105, $P=0.011$) 是肝内导管、胆道和胆囊恶性肿瘤发生的危险因素, 但 MR-Egger 回归结果提示甾醇酯（27:1/14:0）(OR=1.861, 95%CI=0.945~2.745, $P=0.285$)、甾醇酯（27:1/16:0）(OR=1.537, 95%CI=1.033~2.289, $P=0.053$) 和甾醇酯（27:1/22:6）(OR=1.927, 95%CI=0.790~4.700, $P=0.200$) 与肝内导管、胆道和胆囊恶性肿瘤发生无因果关

联, 但与其他 MR 分析方法方向一致。WM 法分析结果显示：甾醇酯（27:1/14:0）(OR=2.786, 95%CI=1.419~5.468, $P=0.003$) 和甾醇酯（27:1/18:2）(OR=1.548, 95%CI=1.148~2.088, $P=0.004$) 是肝内导管、胆道和胆囊恶性肿瘤发生的危险因素, 甾醇酯（27:1/16:0）(OR=1.158, 95%CI=0.875~1.532, $P=0.304$) 和甾醇酯（27:1/22:6）(OR=1.001, 95%CI=0.672~1.440, $P=0.932$) 与肝内导管、胆道和胆囊恶性肿瘤发生无因果关系, 但与其他 MR 分析方法的结果方向一致。其余种类甾醇酯均与肝内导管、胆道和胆囊恶性肿瘤发生无因果关系 ($P>0.05$)。见表 2。

2.3 多效性和异质性检验 MR-Egger 截距分析 $P>0.05$, Cochran Q 检验 $P>0.05$, 见图 3。漏斗图和散点图见图 1 和 2。漏斗图显示每个 SNP 的因果效应分布基本对称。

2.4 敏感性分析 采用留一法进行敏感性分析, 并绘制森林图, 见图 3。逐一剔除工具变量 SNPs,

表2 甾醇酯与肝内导管、胆道和胆囊恶性肿瘤发生的因果关系
Tab. 2 Causal relationships between sterol esters and malignant tumors of intrahepatic ducts, bile ducts, and gallbladder

Exposed sterol ester	Methods	β	SE	OR (95%CI)	P
Sterol ester (27:1/14:0)	MR-Egger	1.976	0.948	1.285 (0.695—2.338)	0.424
	WM	1.024	0.344	2.786 (1.419—5.468)	0.003
	IVW	0.854	0.275	2.349 (1.371—4.025)	0.002
Sterol ester (27:1/16:0)	MR-Egger	0.430	0.203	1.537 (1.033—2.289)	0.053
	WM	0.167	0.142	1.158 (0.875—1.532)	0.304
	IVW	0.221	0.104	1.248 (1.018—1.523)	0.033
Sterol ester (27:1/18:2)	MR-Egger	0.712	0.215	2.038 (1.337—3.105)	0.011
	WM	0.437	0.153	1.548 (1.148—2.088)	0.004
	IVW	0.308	0.119	1.361 (1.078—1.718)	0.009
Sterol ester (27:1/22:6)	MR-Egger	0.656	0.455	1.927 (0.790—4.700)	0.200
	WM	−0.017	0.195	1.001 (0.672—1.440)	0.932
	IVW	0.292	0.148	1.339 (1.001—1.791)	0.049

β : Effect values for alleles. SE: Standard error of β . P: FDR-corrected.

表3 甾醇酯与肝内导管、胆道和胆囊恶性肿瘤发生的因果关系异质性及多效性评价

Tab. 3 Performation results of heterogeneity and multiplicity of causal relationships between sterol esters and malignant tumors of intrahepatic ducts, bile ducts, and gallbladder

Exposed sterol ester	MR-Egger		Cochran Q test	
	Intercept	P	Q	P
Sterol ester (27:1/14:0)	−0.140	0.432	0.335	0.563
Sterol ester (27:1/16:0)	−0.039	0.253	16.913	0.261
Sterol ester (27:1/18:2)	−0.099	0.057	5.150	0.741
Sterol ester (27:1/22:6)	−0.072	0.429	7.516	0.276

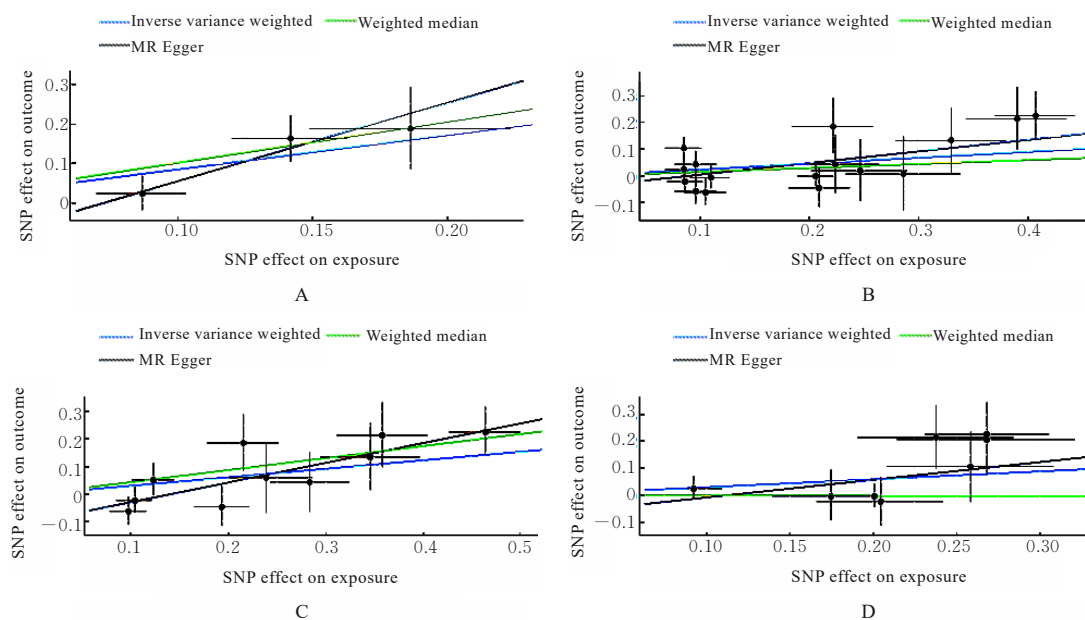
剩余的 SNPs 分析结果与纳入全部 SNPs 的分析结果相似，未发现甾醇酯（27:1/14:0）、甾醇酯（27:1/16:0）、甾醇酯（27:1/18:2）和甾醇酯（27:1/22:6）与肝内导管、胆道及胆囊恶性肿瘤关联影响较大的异常 SNP，确保本研究结果的可靠性。

3 讨 论

本研究首次全面探讨了不同种类甾醇酯对肝内导管、胆道和胆囊恶性肿瘤发病的影响。通过研究 15 种甾醇酯的特征作为暴露，并以肝内导管、胆道和胆囊恶性肿瘤作为结局，探讨不同种类甾醇酯与肝内导管、胆道和胆囊恶性肿瘤发生的因果关系。本研究结果显示：甾醇酯（27:1/14:0）、甾醇酯（27:1/16:0）、甾醇酯（27:1/18:2）和甾醇酯（27:1/22:6）对肝内导管、胆道和胆囊恶性肿瘤的

发生风险有明显影响，各种敏感性分析证实了结果的可靠性和稳健性。

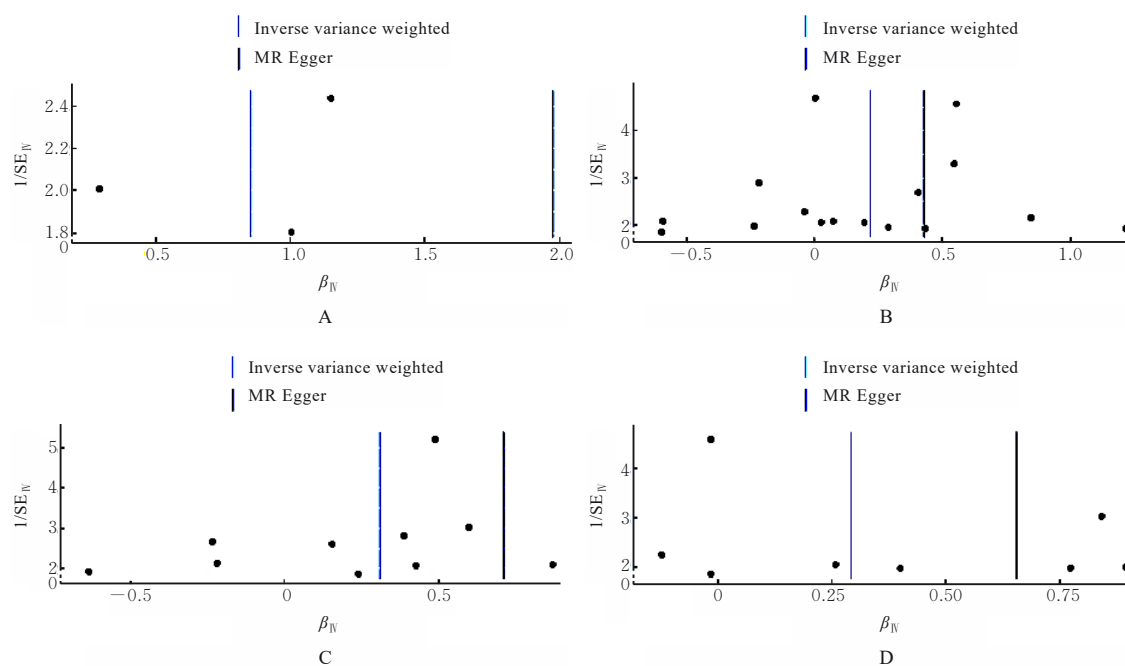
本研究结果显示：甾醇酯（27:1/14:0）、甾醇酯（27:1/16:0）、甾醇酯（27:1/18:2）和甾醇酯（27:1/22:6）增加了患肝内导管、胆道和胆囊恶性肿瘤的风险，可能与甾醇酯的结构有关。所有甾醇的共同特点是在碳原子的 3 位上有 1 个羟基，在碳-5、6 位上有 1 个双键，甾醇经由甾醇酯合成酶的作用合成甾醇酯，其中有区别的是有不同数量的碳原子不饱和脂肪酸和附着的双键数量不同，不同的结构所发挥的理化性质存在差异^[20]。血清中不同结构的甾醇酯含量也不同，可能与血清中甾醇酯含量有关。研究^[18]显示：甾醇酯（27:1/20:4）和甾醇酯（27:1/20:5）是乳腺癌发生的危险因素。本研究结果显示：甾醇酯（27:1/14:0）、甾醇酯（27:1/16:0）、甾醇酯（27:1/18:2）和甾醇酯（27:1/22:6）增加患肝内导管、胆道及胆囊恶性肿瘤的风险，可能与肿瘤发生部位不同，以及不同种类甾醇酯在各器官吸收效率不同有关^[21-23]。已有研究^[24]通过核磁共振波谱学对来自不同人类肿瘤组织的总脂质提取物进行研究，发现在恶性肿瘤（胶质母细胞瘤和间变性少突胶质细胞瘤）中可检测出胆固醇酯。既往研究^[13]显示：胆固醇酯代谢相关酶表达水平的改变与结直肠癌的发病机制、临床进展和差异高度相关。胆固醇酯可能是恶性脑瘤和肾肿瘤的标志物^[25-27]。上述研究结果均表明不同结构的甾醇酯影响恶性肿瘤的发生发展。



A: Sterol ester (27:1/14:0); B: Sterol ester (27:1/16:0); C: Sterol ester (27:1/18:2); D: Sterol ester (27:1/22:6).

图1 甾醇酯与肝内导管、胆道和胆囊恶性肿瘤发生的因果关系的MR分析结果散点图

Fig. 1 Scatter plots of MR analysis results of causal association of sterol esters with occurrence of intrahepatic ducts, biliary tract, and gallbladder malignancies



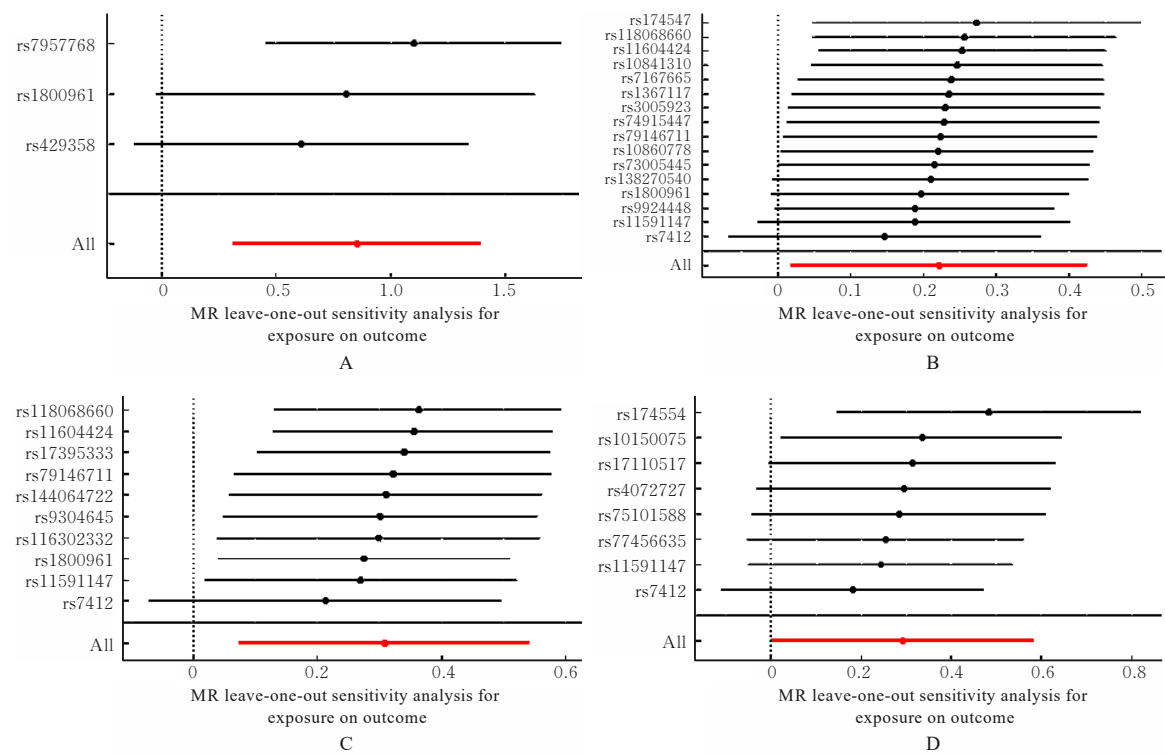
A: Sterol ester (27:1/14:0); B: Sterol ester (27:1/16:0); C: Sterol ester (27:1/18:2); D: Sterol ester (27:1/22:6).

图2 甾醇酯与肝内导管、胆道和胆囊恶性肿瘤发生的因果关系的漏斗图

Fig. 2 Funnel plots of causal association of sterol esters with occurrence of intrahepatic ductal, biliary, and gallbladder malignancies

本研究首次揭示了不同种类甾醇酯与肝内导管、胆道和胆囊恶性肿瘤发生的因果关系, 为了解其潜在机制和治疗靶点提供了依据。理解甾醇酯与

肝内导管、胆道和胆囊恶性肿瘤发生的关系可能有助于开发针对该疾病的预防措施。



A: Sterol ester (27;1/14;0) ; B: Sterol ester (27;1/16;0) ;C: Sterol ester (27;1/18;2) ; D: Sterol ester (27;1/22;6).

图3 甾醇酯与肝内导管、肠道和胆囊恶性肿瘤发生的因果关系留一法的敏感性分析结果

Fig. 3 Sensitivity analysis results of leave-one-out of causal relationships between sterol esters and malignant tumors of intrahepatic ducts, bile ducts, and gallbladder

利益冲突声明:

所有作者声明不存在利益冲突。

作者贡献声明:

周先雷参与实验数据获得和分析及论文撰写, 闫子默参与数据收集, 郭力雯参与实验数据分析, 张雪梅参与项目审查、项目管理、资金支持和论文审校。

[参考文献]

[1] MUKKAMALLA S K R, NASERI H M, KIM B M, et al. Trends in incidence and factors affecting survival of patients with cholangiocarcinoma in the United States[J]. J Natl Compr Canc Netw, 2018, 16(4): 370-376.

[2] MAVROS M N, ECONOMOPOULOS K P, ALEXIOU V G, et al. Treatment and prognosis for patients with intrahepatic cholangiocarcinoma: systematic review and meta-analysis [J]. JAMA Surg, 2014, 149(6): 565-574.

[3] HUNDAL R, SHAFFER E A. Gallbladder cancer: epidemiology and outcome [J]. Clin Epidemiol, 2014, 6: 99-109.

[4] RUSTAGI T, DASANU C A. Risk factors for gallbladder cancer and cholangiocarcinoma: similarities, differences and updates [J]. J Gastrointest Cancer,

2012, 43(2): 137-147.

[5] SHARMA A, SHARMA K L, GUPTA A, et al. Gallbladder cancer epidemiology, pathogenesis and molecular genetics: Recent update [J]. World J Gastroenterol, 2017, 23(22): 3978-3998.

[6] LIU Q L, ZHANG P F, LI Q. Exploring molecular mechanisms in the second-line treatment of biliary tract malignant tumors[J]. Discov Med, 2024, 36(180): 48-60.

[7] HOLERT J, BROWN K, HASHIMI A, et al. Steryl ester formation and accumulation in steroid-degrading bacteria[J]. Appl Environ Microbiol, 2020, 86(2): e02353-19.

[8] RAZIN S, TULLY J G. Cholesterol requirement of mycoplasmas[J]. J Bacteriol, 1970, 102(2): 306-310.

[9] MADRA M, STURLEY S L. Niemann-Pick type C pathogenesis and treatment: from statins to sugars [J]. Clin Lipidol, 2010, 5(3): 387-395.

[10] WANG H, PENG D Q. New insights into the mechanism of low high-density lipoprotein cholesterol in obesity[J]. Lipids Health Dis, 2011, 10: 176.

[11] CHISTIYAKOV D A, BOBRYSHYEV Y V, OREKHOV A N. Macrophage-mediated cholesterol

- handling in atherosclerosis[J]. *J Cell Mol Med*, 2016, 20(1): 17-28.
- [12] DE GONZALO-CALVO D, LÓPEZ-VILARÓ L, NASARRE L, et al. Intratumor cholesteryl ester accumulation is associated with human breast cancer proliferation and aggressive potential: a molecular and clinicopathological study [J]. *BMC Cancer*, 2015, 15: 460.
- [13] LIU Z R, GOMEZ C R, ESPINOZA I, et al. Correlation of cholesteryl ester metabolism to pathogenesis, progression and disparities in colorectal Cancer[J]. *Lipids Health Dis*, 2022, 21(1): 22.
- [14] XU H L, CHENG J R, ANDREOTTI G, et al. Cholesterol metabolism gene polymorphisms and the risk of biliary tract cancers and stones: a population-based case-control study in Shanghai, China [J]. *Carcinogenesis*, 2011, 32(1): 58-62.
- [15] ZHANG Y L, LIU Y F, DUAN J L, et al. Cholesterol depletion sensitizes gallbladder cancer to cisplatin by impairing DNA damage response[J]. *Cell Cycle*, 2019, 18(23): 3337-3350.
- [16] DAVIES N M, HOLMES M V, DAVEY SMITH G. Reading Mendelian randomisation studies: a guide, glossary, and checklist for clinicians [J]. *BMJ*, 2018, 362: k601.
- [17] OTTENSMAAN L, TABASSUM R, RUOTSALAINEN S E, et al. Genome-wide association analysis of plasma lipidome identifies 495 genetic associations[J]. *Nat Commun*, 2023, 14(1): 6934.
- [18] CAO Y C, AI M C, LIU C J. The impact of lipidome on breast cancer: a Mendelian randomization study[J]. *Lipids Health Dis*, 2024, 23(1): 109.
- [19] 侯雅琪, 龚万里, 李 渊, 等. 脂质体和免疫细胞与非小细胞肺癌因果关系的两步双样本孟德尔随机化研究[J]. *现代预防医学*, 2024, 51(14): 2528-2534.
- [20] KORBER M, KLEIN I, DAUM G. Steryl ester synthesis, storage and hydrolysis: a contribution to sterol homeostasis[J]. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids*, 2017, 1862(12): 1534-1545.
- [21] TOSI M R, TUGNOLI V. Cholesteryl esters in malignancy[J]. *Clin Chim Acta*, 2005, 359(1/2): 27-45.
- [22] ABUMRAD N A, DAVIDSON N O. Role of the gut in lipid homeostasis[J]. *Physiol Rev*, 2012, 92(3): 1061-1085.
- [23] D'AQUILA T, HUNG Y H, CARREIRO A, et al. Recent discoveries on absorption of dietary fat: Presence, synthesis, and metabolism of cytoplasmic lipid droplets within enterocytes [J]. *Biochim Biophys Acta BBA Mol Cell Biol Lipids*, 2016, 1861(8): 730-747.
- [24] NYGREN C, VON HOLST H, MÅNSSON J E, et al. Increased levels of cholesterol esters in glioma tissue and surrounding areas of human brain [J]. *Br J Neurosurg*, 1997, 11(3): 216-220.
- [25] TUGNOLI V, TOSI M R, TINTI A, et al. Characterization of lipids from human brain tissues by multinuclear magnetic resonance spectroscopy [J]. *Biopolymers*, 2001, 62(6): 297-306.
- [26] TOSI M R, BOTTURA G, LUCCHI P, et al. Cholesteryl esters in human malignant neoplasms [J]. *Int J Mol Med*, 2003, 11(1): 95-98.
- [27] 任泳年, 唐昌乾, 魏星博, 等. 甲磺酸阿帕替尼联合吉西他滨+顺铂+卡瑞丽珠单抗治疗晚期胆囊癌的效果及安全性分析[J]. *临床肝胆病杂志*, 2025, 41(7): 1401-1406.