

脂联素与前列腺癌因果关联:两样本孟德尔随机化分析

颜赞坤,柳建军,许志坚,李建国,叶木石 (广东医科大学附属泌尿外科,广东湛江 524001)

摘要:目的 探讨脂联素与前列腺癌因果关系。方法 采用两样本孟德尔随机化(MR)分析方法,将与脂联素相关遗传变异数据(SNPs)作为工具变量(IV),分析脂联素对前列腺癌因果影响。结果 逆方差加权法、加权中值法和MR-Egger分析均显示脂联素与前列腺癌风险之间没有因果关系($P>0.05$)。MR-Egger分析显示结果中定向多效效应不太可能导致偏倚($P=0.418$)。基于个体变异的IV估计之间没有异质性。“leave one out”分析表明没有单独SNPs可驱动估计结果。结论 孟德尔随机化研究结果显示脂联素与前列腺癌风险之间不存在因果关系。

关键词:脂联素;前列腺癌;孟德尔随机化

中图分类号: R 737

文献标志码: A

文章编号: 2096-3610(2022)02-0165-05

Causal association between adiponectin and prostate cancer: two-sample Mendelian randomization analysis

YAN Yun-kun, LIU Jian-jun, XU Zhi-jian, LI Jian-chang, YE Mu-shi (Department of Urology, Affiliated Hospital of Guangdong Medical University, Zhanjiang 524001, China)

Abstract: Objective To investigate the causal relationship between adiponectin and prostate cancer. Methods The adiponectin-associated single nucleotide polymorphisms (SNPs) as instrumental variables (IV), the causal effect of adiponectin on prostate cancer was analyzed using two-sample Mendelian randomization (MR). Results Inverse variance weighted method, weighted median method, and MR-Egger analysis showed no causal relationship between adiponectin and prostate cancer ($P>0.05$). MR-Egger analysis showed that directional pleiotropy was unlikely to cause the bias ($P=0.418$). There was no heterogeneity among IV estimates based on individual variation. Leave one out analysis showed that no single SNPs could drive the estimation results. Conclusion There is no causal relationship between adiponectin and prostate cancer risk using Mendelian randomization.

Key words: adiponectin; prostate cancer; Mendelian randomization

前列腺癌是人类第二常见的癌症,也是男性癌症死亡的第五大原因^[1]。脂联素是脂肪细胞的特异性因子,它在脂肪组织中大量表达和分泌^[2]。目前关于脂联素与前列腺癌风险关系的研究结果并不一致^[3-7]。因观察性流行病学的研究易出现因果关系逆转和各种偏倚^[8],而两样本孟德尔随机化(MR)研究是一种利用影响暴露因素的遗传变异数据来估计暴露因素与结局指标之间因果关系分析方法^[9]。它的分析策略是从不同的全基因组关联研究(GWAS)数据集中获得遗传危险因素与遗传结局之间关联的证据^[10]。本实验利用脂联素和前列腺癌的大规模GWAS数据集进行两样本的MR分析,旨在探讨脂联素与前列腺癌间的关系。

收稿日期: 2021-06-21

基金项目: 湛江市科技计划项目(2018B01134)

作者简介: 颜赞坤(1986—),男,博士,主治医师, E-mail:

yangyunkun@163.com

1 资料和方法

1.1 一般资料

两样本MR研究的数据来源于目前已公开发表的GWAS汇总数据集^[11-12],包括前列腺癌和脂联素的GWAS数据集。所有参与者均签署了知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 前列腺癌GWAS数据集的选取 结局数据集包括来自GWAS数据集的荟萃分析数据。我们通过PRACTICAL联盟获得46 939名前列腺癌患者和27 910名欧洲后裔对照者的基因型荟萃分析数据^[13]。PRACTICAL联盟样本的基因分型均通过OncoArray-500K平台获得^[14]。

1.2.2 脂联素GWAS数据集的选取 通过ADIPO-Gen联盟获取与脂联素浓度密切相关的遗传变异数据(SNPs) ($P<5\times 10^{-8}$)构建工具变量(IV)。ADIPO-Gen联盟的研究对象主要是欧洲人($n=45\ 891$),可以提供荟萃分析的数据用于科研和随访^[15]。该联盟可

以提供的有效预测脂联素的潜在IV包括162个SNPs^[16]。汇总数据中每个遗传变异对脂联素的效应值和标准误差数据也从ADIPOGen联盟之前发表的GWAS研究中获取^[16]。

1.2.3 MR分析 采用R(4.0.2版本)中的“TwoSampleMR”进行分析, $P<0.05$ 认为差异有统计学意义。使用来自两个不同研究的汇总数据作为IV评估脂联素与前列腺癌风险的因果关系。使用3种MR分析方法(逆方差加权法、加权中值法和MR-Egger法)分析脂联素与前列腺癌风险间是否存在因果关系。其中逆方差加权法(IVW)和加权中值法主要用于MR分析。MR-Egger截距检验主要用于潜在多效性效应的统计检验。采用随机效应的IVW分析方法对脂联素和前列腺癌风险的SNPs相关性进行回归分析,计算IV比值估计的方差加权平均值的反比。由于随机效应的IVW允许每个SNPs产生不同的平均效应,我们采用随机效应的IVW方法^[17]。为确保选择的IV不会通过除脂联素以外的生物途径影响前列腺癌风险的这一结局变量,采用MR-Egger截距检测评估IV与其他潜在混杂因素间的多效性关系^[18]。这种回归方法的斜率代表了因果效应的评估,截距代表遗传变异的平均水平多效性效应的评估^[19]。加权中值法分析提供了一致的因果影响评估^[20]。使用网站LDlink寻找高连锁不平衡的SNPs作为代理的SNPs([\[link.nci.nih.gov/\]\(https://ld-link.nci.nih.gov/\)\)^{\[21\]}。对于每个遗传变异, \$P\$ 值= \$5.00E-08\$ 对应于 \$F\$ 统计量 \$>30\$ ^{\[22\]}。](https://ld-</p></div><div data-bbox=)

1.2.4 异质性和敏感性分析 采用Cochran的Q检验和漏斗图评估SNPs间的异质性^[23-24]。为了评估未知的多效性,我们采用了多种分析方法:(1)敏感性分析使用了“leave one out”探讨单个SNPs驱动这种因果关联的可能性;(2)MR-Egger截距检验评估基因变异与其他潜在混杂因素的多效性关联。在排除已知的多效性SNPs后我们重复上述的孟德尔随机分析。Phenoscaner网站用于检索SNPs可能的多效性效应(<http://www.phenoscaner.medschl.cam.ac.uk/>)^[25]。

2 结果

2.1 孟德尔随机化IV的确定

在全基因组水平上能有效预测脂联素的162个SNPs可以用作潜在的IV。考虑到一些SNPs彼此处于连锁不平衡(LD)中,进一步使用MRBase(<https://mrcieu.github.io/TwoSampleMR/>)估计SNPs间的LD($LD^2<0.05$)。在经过“LD clumped”步骤后,得到21个独立的、不处于连锁不平衡的SNPs(表1)。汇总数据中仅有rs1108842、rs3001032和rs731839在PRAC-TICAL的OncoArray数据中,均未找到与暴露和结局的汇总数据匹配的代理SNPs。最终选定3个SNPs作为IV进行后续的MR分析(表2)。由于 $F<10$ 用于定

表1 21个潜在的可作为预测脂联素的IV

单核苷酸多态性	<i>n</i>	β 系数	标准误	效应等位基因频率	效应等位基因	其他等位基因	基因	<i>P</i> 值
rs1108842	35 962	0.03	0.004	0.70	A	C	GNL3	1.39E-13
rs12051272	21 064	0.26	0.017	0.49	T	G	CDH13	6.13E-48
rs16861209	35 822	0.16	0.009	0.25	C	A	ADIPOQ	2.70E-64
rs17366568	30 805	0.13	0.008	0.68	A	G	ADIPOQ	1.81E-55
rs1870843	35 966	0.03	0.004	0.48	A	G	CDH13	6.97E-11
rs187868	35 953	0.05	0.004	0.93	A	G	RFC4	3.66E-33
rs266743	35 745	0.05	0.006	0.20	T	C	KNR1	1.68E-16
rs2925979	35 970	0.04	0.005	0.10	T	C	CMIP	1.21E-20
rs2980879	30 708	0.03	0.005	0.71	A	T	TRIB1	7.13E-09
rs3001032	35 930	0.02	0.004	0.12	T	C	SLC30A10	3.60E-08
rs601339	35 947	0.03	0.005	0.50	A	G	GPR109A	7.81E-10
rs6444175	35 288	0.06	0.005	0.32	G	A	ADIPOQ	8.09E-42
rs6488898	35 969	0.05	0.008	0.62	G	A	ATP6V0A2	2.80E-10
rs731839	35 771	0.03	0.004	0.81	G	A	PEPD	7.97E-12
rs7615090	25 771	0.06	0.008	0.08	G	T	ADIPOQ	5.70E-12
rs7649121	33 462	0.06	0.007	0.67	T	A	ADIPOQ	1.01E-18
rs7955516	38 276	0.02	0.004	0.61	A	C	PDE3A	4.45E-08
rs7978610	33 650	0.03	0.005	0.30	G	C	ZNF664	1.41E-08
rs822355	32 715	0.04	0.005	0.04	T	C	KNR1	3.47E-12
rs863750	35 275	0.02	0.004	0.63	T	C	ZNF664	2.81E-08
rs998584	34 108	0.03	0.005	0.35	A	C	VEGFA	3.25E-08

表2 3个可作为预测脂联素的IV

单核苷酸多态性	β 系数	标准误	效应等位基因频率	效应等位基因	其他等位基因	基因	P 值
rs1108842	0.03	0.004	0.70	A	C	GNL3	1.39E-13
rs3001032	0.02	0.004	0.12	T	C	SLC30A10	3.60E-08
rs731839	0.03	0.004	0.81	G	A	PEPD	7.97E-12

义“弱IV”,所以作为IV的偏倚达到了最小。

2.2 孟德尔随机化分析结果

IVW、加权中值法和MR-Egger分析均显示脂联素与前列腺癌风险间没有因果关系($P>0.05$)。MR-Egger分析显示结果中的定向多效效应不太可能导致偏倚(截距=0.038, $P=0.418$)。见表3。

表3 3种MR分析方法来评估脂联素对前列腺癌风险的因果影响

方法	n	β 系数	标准误	P 值
IVW	3	0.165	0.212	0.436
加权中值法	3	0.133	0.215	0.537
MR-Egger	3	-1.200	1.066	0.462

2.3 异质性和敏感性分析结果

基于个体变异的IV间不存在异质性(IVW的Cochran Q 检验值=2.815,异质性的 P 值=0.244;MR-Egger的Cochran Q 检验值=1.047,异质性的 P 值=0.306),见图1。没有单一的SNPs可以影响结果的估计,见图2。

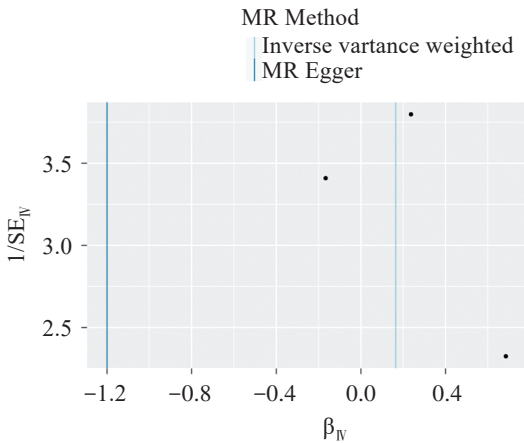


图1 评估异质性的漏斗图

3 讨论

近年来,越来越多的证据表明肥胖与前列腺癌风险间存在着重要关联^[26]。脂联素来源于脂肪组织,目前有研究报道它与各种癌症的癌变密切相关,包括乳腺癌、结肠癌、肝癌和前列腺癌^[27]。一项Meta分析结

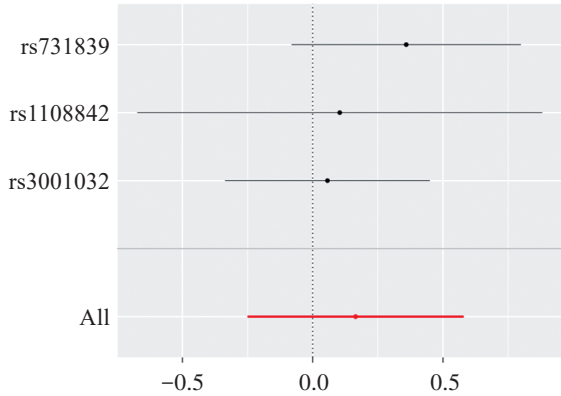


图2 MR “leave-one-out”分析脂联素对前列腺癌风险的敏感性

果显示,瘦素、脂联素及其受体在前列腺癌的发展和进展中起着至关重要的作用^[28],但Li等^[7,29]研究发现脂联素的浓度与前列腺癌的发生风险无关。为了进一步确定脂联素是否与前列腺癌存在因果关系,我们采用了3种不同的分析方法(IVW、加权中值法和MR-Egger法)进行MR分析,结果显示3种方法分析得到的结果一致,它们均不支持脂联素与前列腺癌风险之间存在因果关系;在排除了潜在的多效性SNPs后,3种MR分析方法的结果仍然是一致的。我们的研究具有以下几方面优势:(1)研究采用的MR分析方法可以避免混杂因素、反向因果关系、报告偏倚、低估表型和行为变异引起的风险关联所产生的影响^[30];(2)研究中选择了大规模的脂联素GWAS数据集和前列腺癌GWAS数据集,而在两样本MR分析中使用GWAS汇总数据的优点是可以增强统计分析结果的强度,特别是在分析对疾病结局的影响方面^[31];(3)研究选择了3种MR法评估各种分析方法的稳健性;(4)研究所需的汇总数据可以从网络中获得,能够节省更多的成本和时间。

MR分析结果容易受到多效性的影响^[32]。多效性是指作为IV的遗传变异可能与多种表型相关,可导致MR分析所得到的因果预测结果产生偏倚^[33]。因此,我们需要进一步使用灵敏度分析检验MR分析所得结论的正确性。首先,我们使用“leave one out”分析单个SNPs驱动因果关系结果的可能性;其次,我们使用加权中值法减少多效性的影响,因为即使有50%的SNPs不是有效的IV,但该方法仍然可以提供准确的

MR估计结果^[20]。此外,MR-Egger法可用于评估不平衡的多效性效应和暴露对结果的因果效应^[19]。本研究加权中值法的计算结果与IVW法的计算结果一致。我们推测先前报道的脂联素与前列腺癌之间的观察性研究中可能有混杂的因素或偏倚。虽然我们使用了MR分析,但是研究仍有一定的局限性:(1)研究包括相对较少的SNPs作为IV,检测因果关联的能力有限;(2)不能完全排除一些包括文献尚未报道的未知的混杂因素;(3)研究纳入的人群主要是欧洲人,由于因果关联的分析结果可能也会受到种族的影响,所以我们可能需要进一步在其他种族中进行同样的MR研究以验证该结论;(4)研究无法获得每个患者的数据,因此无法在本研究中进一步进行亚组分析。

综上所述,孟德尔随机化研究结果显示脂联素与前列腺癌风险之间不存在因果关系。

参考文献:

- [1] BRAY F, FERLAY J, SOERJOMATARAM I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. *CA Cancer J Clin*, 2018, 68(6):394-424.
- [2] KOERNER A, KRATZSCH J, KIESS W. Adipocytokines: Leptin-the classical, resistin-the controversial, adiponectin-the promising, and more to come[J]. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*, 2005, 19(4):525-546.
- [3] HU X, HU C, ZHANG C, et al. Role of Adiponectin in prostate cancer[J]. *Int Braz J Urol*, 2019, 45(2):220-228.
- [4] MICHALAKIS K, WILLIAMS C J, MITSIADES N, et al. Serum adiponectin concentrations and tissue expression of adiponectin receptors are reduced in patients with prostate cancer: A case control study[J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2007, 16(2):308-313.
- [5] TEWARI R, RAJENDER S, NATU S M, et al. Significance of obesity markers and adipocytokines in high grade and high stage prostate cancer in North Indian men-a cross-sectional study[J]. *Cytokine*, 2013, 63(2):130-134.
- [6] BAILLARGEON J, PLATZ E A, ROSE D P, et al. Obesity, adipokines, and prostate cancer in a prospective population-based study[J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2006, 15(7):1331-1335.
- [7] LI H, STAMPFER M J, MUCCI L, et al. A 25-year prospective study of plasma adiponectin and leptin concentrations and prostate cancer risk and survival[J]. *Clin Chem*, 2010, 56(1):34-43.
- [8] DAVEY SMITH G, HEMANI G. Mendelian randomization: Genetic anchors for causal inference in epidemiological studies[J]. *Hum Mol Genet*, 2014, 23(R1):R89-98.
- [9] LAWLOR D A, HARBORD R M, STERNE J A, et al. Mendelian randomization: using genes as instruments for making causal inferences in epidemiology[J]. *Stat Med*, 2008, 27(8):1133-1163.
- [10] PIERCE B L, BURGESS S. Efficient design for Mendelian randomization studies: subsample and 2-sample instrumental variable estimators[J]. *Am J Epidemiol*, 2013, 178(7):1177-1184.
- [11] LIU G, ZHAO Y, JIN S, et al. Circulating vitamin E levels and Alzheimer's disease: A Mendelian randomization study[J]. *Neurobiol Aging*, 2018, 72:189.e1-189.e9.
- [12] YARMOLINSKY J, BERRYMAN K, LANGDON R, et al. Mendelian randomization does not support serum calcium in prostate cancer risk[J]. *Cancer Causes Control*, 2018, 29(11):1073-1080.
- [13] SCHUMACHER F R, OLAMA A, BERNDT S I, et al. Author correction: Association analyses of more than 140000 men identify 63 new prostate cancer susceptibility loci[J]. *Nat Genet*, 2019, 51(2):363.
- [14] AMOS C I, DENNIS J, WANG Z, et al. The OncoArray Consortium: A network for understanding the genetic architecture of common cancers[J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2017, 26(1):126-135.
- [15] DASTANI Z, HVERT M F, TIMPSON N, et al. Novel loci for adiponectin levels and their influence on type 2 diabetes and metabolic traits: A multi-ethnic meta-analysis of 45891 individuals[J]. *PLoS Genet*, 2012, 8(3):e1002607.
- [16] DASTANI Z, JOHNSON T, KRONENBERG F, et al. The shared allelic architecture of adiponectin levels and coronary artery disease[J]. *Atherosclerosis*, 2013, 229(1):145-148.
- [17] BOWDEN J, DEL GRECO M F, MINELLI C, et al. A framework for the investigation of pleiotropy in two-sample summary data Mendelian randomization[J]. *Stat Med*, 2017, 36(11):1783-1802.
- [18] BOWDEN J, DAVEY SMITH G, BURGESS S. Mendelian randomization with invalid instruments: effect estimation and bias detection through Egger regression[J]. *Int J Epidemiol*, 2015, 44(2):512-525.
- [19] BURGESS S, THOMPSON S G. Interpreting findings from Mendelian randomization using the MR-Egger method[J]. *Eur J Epidemiol*, 2017, 32(5):377-389.
- [20] BOWDEN J, DAVEY SMITH G, HAYCOCK P C, et al. Consistent estimation in Mendelian randomization with some invalid instruments using a weighted median estimator[J]. *Genet Epidemiol*, 2016, 40(4):304-314.
- [21] MACHIELA M J, CHANOCK S J. LDlink: A web-based application for exploring population-specific haplotype structure and linking correlated alleles of possible functional variants[J]. *Bioinformatics*, 2015, 31(21):3555-3557.
- [22] BURGESS S, BUTTERWORTH A, THOMPSON S G.

- Mendelian randomization analysis with multiple genetic variants using summarized data[J]. *Genet Epidemiol*, 2013, 37(7):658-665.
- [23] HIGGINS J P, THOMPSON S G, DEEKS J J, et al. Measuring inconsistency in meta-analyses[J]. *BMJ*, 2003, 327(7414): 557-560.
- [24] EGGER M, SMITH G D, PHILLIPS A N. Meta-analysis: Principles and procedures[J]. *BMJ*, 1997, 315(7121):1533-1537.
- [25] STALEY J R, BLACKSHAW J, KAMAT M A, et al. PhenoScanner: A database of human genotype-phenotype associations[J]. *Bioinformatics*, 2016, 32(20):3207-3209.
- [26] MISTRY T, DIGBY J E, DESAI K M, et al. Obesity and prostate cancer: A role for adipokines[J]. *Eur Urol*, 2007, 52(1):46-53.
- [27] PERRIER S, JARDÉ T. Adiponectin, an anti-carcinogenic hormone? A systematic review on breast, colorectal, liver and prostate cancer[J]. *Curr Med Chem*, 2012, 19(32):5501-5512.
- [28] HU M B, XU H, HU J M, et al. Genetic polymorphisms in leptin, adiponectin and their receptors affect risk and aggressiveness of prostate cancer: Evidence from a meta-analysis and pooled-review[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(49):81049-81061.
- [29] NISHIMURA K, SODA T, NAKAZAWA S, et al. Serum adiponectin and leptin levels are useful markers for prostate cancer screening after adjustments for age, obesity-related factors, and prostate volume[J]. *Minerva Urol Nefrol*, 2012, 64(3):199-208.
- [30] SLEIMAN P M, GRANT S F. Mendelian randomization in the era of genomewide association studies[J]. *Clin Chem*, 2010, 56(5):723-728.
- [31] BURGESS S, SCOTT R A, TIMPSON N J, et al. Using published data in Mendelian randomization: A blueprint for efficient identification of causal risk factors[J]. *Eur J Epidemiol*, 2015, 30(7):543-552.
- [32] THOMPSON J R, MINELLI C, BOWDEN J, et al. Mendelian randomization incorporating uncertainty about pleiotropy [J]. *Stat Med*, 2017, 36(29):4627-4645.
- [33] PABBY A B, ROCKMAN M V. The many faces of pleiotropy [J]. *Trends Genet*, 2013, 29(2):66-73.

慢性心力衰竭患者血浆半乳糖凝集素-3与动脉僵硬度的相关性

许名东, 李丽华, 李晚泉, 刘家超, 李小丹, 叶浩彬, 陈健芳, 邹文毕 (佛山市三水区人民医院心血管内科, 广东佛山 528100)

摘要: 目的 分析慢性心力衰竭(CHF)患者血浆半乳糖凝集素-3(Gal-3)与动脉僵硬度的相关性。方法 收集336例CHF患者及112例非CHF患者(对照组)临床资料、实验室检查和B超结果, ELISA检测血浆Gal-3水平, 动脉硬化检测仪测定颈动脉和股动脉脉搏波传导速度(cf-PWV)、肱动脉和踝动脉脉搏波传导速度(ba-PWV)。结果 LVEF、LVEDD、cf-PWV、ba-PWV、Gal-3、NT-proBNP在两组中差异均有统计学意义($P < 0.01$)。CHF组中, Gal-3与NT-proBNP、cf-PWV、ba-PWV呈显著正相关(均 $P < 0.01$)。结论 Gal-3、NT-proBNP和动脉僵硬性是CHF分级评估的重要指标并具有一定相关性。

关键词: 半乳糖凝集素-3; 动脉僵硬性; 慢性心力衰竭

中图分类号: R 541

文献标志码: A

文章编号: 2096-3610(2022)02-0169-04

Correlation between plasma galectin-3 level and arterial stiffness in patients with chronic heart failure

XU Ming-dong, LI Li-hua, LI Wan-quan, LIU Jia-chao, LI Xiao-dan, YE Hao-bin, CHEN Jian-fang, ZOU Wen-bi (Department of Cardiology, Sanshui People's Hospital, Foshan 528100, China)

Abstract: Objective To analyze the correlation between plasma galectin-3 level and arterial stiffness in patients with chronic heart failure (CHF). Methods Clinical, laboratory examination, and ultrasonography data were collected from 336

收稿日期: 2021-06-29

基金项目: 佛山市科技攻关项目(1920001000275)

作者简介: 许名东(1969-), 男, 本科, 副主任医师, E-mail: 1786362851@qq.com