

• 基础研究 •

幽门螺杆菌与食管癌的因果关联: 基于孟德尔随机化研究

杜凯豪¹, 侯立朝², 东小鸽¹, 罗兰明慧¹, 蒋威¹, 汪占金¹, 薛伟伟¹, 王展^{2,3*}¹青海大学临床医学院, 青海 西宁 810000; ²青海大学附属医院普通外科, ³医工结合与转化应用部, 青海 西宁 810000

[摘要] 目的: 本研究旨在探索幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, HP)与食管癌(esophageal cancer, EC)之间的潜在因果关系。方法: 本研究分析了全基因组关联研究(genome-wide association study, GWAS)数据, 以HP感染作为暴露因素, EC作为结局变量。采用了多种孟德尔随机化(Mendelian randomization, MR)方法, 包括逆方差加权分析法、加权中位数法、MR Egger法、Simple mode法以及Weighted mode法来探索HP与EC之间的关联性。此外, 还引入了贝叶斯加权MR方法, 并通过假阳性发现率(false discovery rate, FDR)进行结果矫正, 以提高分析的精确性。研究还包括离群值检测、异质性检测、敏感性分析、多效性分析, 并且移除了可能因混杂因素影响结果的单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)。对于争议较大的结果, 进行了Meta分析以提供更广泛的视角。同时, 通过Steiger测试和反向MR方法排除了潜在的反向因果关系。此外, 本研究还利用连锁不平衡分数回归(linkage disequilibrium score regression, LDSC)评估了HP与EC之间的遗传相关性。**结果:** 经过综合分析, 无论是传统的两样本MR还是贝叶斯加权MR在FDR矫正后, 结果均表明HP与EC之间没有统计学上的因果联系($P > 0.05$)。所有分析结果均未显示存在多效性($P > 0.05$), 且“留一法”检验也证实了所得结果的稳健性。然而, 对抗HP IgG血清阳性和HP GroEL抗体水平的遗传相关性分析提示, 这些标志物与食管腺癌之间可能存在潜在的遗传相关性($P < 0.05$)。**结论:** 尽管采用了遗传相关的统计方法, 本研究发现当前的证据不足以支持HP与EC之间存在明确的因果关系。这一发现强调了需要更大规模的GWAS数据和更细致的亚型特异性分析来进一步探究二者之间关系的必要性。未来研究应包括更广泛的人群和地理区域, 以增强发现的一般性和适用性, 同时应探讨HP不同菌株的具体影响以及可能机制, 为EC的预防和治疗提供更有力的科学依据。

[关键词] 食管癌; 幽门螺杆菌; 全基因组关联研究; 孟德尔随机化; 贝叶斯加权孟德尔随机化

[中图分类号] R735.1

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2025)10-1404-13

doi: 10.7655/NYDXBNSN240908

The causal association between *Helicobacter pylori* and esophageal cancer: a Mendelian randomization studyDU Kaihao¹, HOU Lichao², DONG Xiaoge¹, LUO Lanminghui¹, JIANG Wei¹, WANG Zhanjin¹, XUE Weiwei¹, WANG Zhan^{2,3*}¹Clinical Medical College, Qinghai University, Xining 810000; ²Department of General Surgery, ³Department of Medical Engineering Integration and Translational Application, Affiliated Hospital of Qinghai University, Xining 810000, China

[Abstract] **Objective:** To explore the potential causal relationship between *Helicobacter pylori* (HP) infection and esophageal cancer (EC). **Methods:** The analysis incorporated genome-wide association study (GWAS) data with HP infection as the exposure and EC as the outcome. A variety of Mendelian randomization (MR) methods were utilized, including inverse-variance weighted analysis, weighted median, MR-Egger, Simple mode, and Weighted mode to investigate the association between HP and EC. Additionally, Bayesian-weighted MR was introduced and the results were corrected using the false discovery rate (FDR) to enhance precision. The study also involved outlier detection, heterogeneity testing, sensitivity analysis, and pleiotropy assessment, as well as removing single nucleotide polymorphisms (SNP) potentially affected by confounding factors. For results that were particularly contentious, a meta-

[基金项目] 国家自然科学基金(82160131); 青海省科技厅项目(2021-ZJ-963Q)

*通信作者(Corresponding author), E-mail: ufofu01@163.com (ORCID: 0000-0002-4225-8136)

analysis was performed to provide a broader perspective. Potential reverse causation was assessed using Steiger testing and reverse MR. Furthermore, linkage disequilibrium score regression (LDSC) was utilized to evaluate the genetic correlation between HP and EC. **Results:** The comprehensive analyses showed that both traditional two-sample MR and Bayesian-weighted MR after FDR correction indicated no statistically significant causal association between HP and EC ($P > 0.05$). No pleiotropy was evident ($P > 0.05$), and the robustness of the results was confirmed by the leave-one-out test. However, genetic correlation analyses of anti-HP IgG serum positivity and HP GroEL antibody levels suggested a potential genetic link with esophageal adenocarcinoma ($P < 0.05$). **Conclusion:** Despite the use of advanced statistical methodologies, the current evidence is insufficient to support a definitive causal association between HP and EC. This finding underscores the need for larger-scale GWAS data and more detailed subtype-specific analyses to further explore the association between these two conditions. Future research should include a broader range of populations and geographical areas to enhance the generalizability and applicability of findings, while also investigating the specific impacts of different HP strains and possible biological mechanisms, providing a stronger scientific support for the prevention and treatment of EC.

[Key words] esophageal cancer; *Helicobacter pylori*; genome-wide association study; Mendelian randomization; Bayesian weighted Mendelian randomization

[J Nanjing Med Univ, 2025, 45(10): 1404-1416]

幽门螺杆菌 (*Helicobacter pylori*, HP) 是一种常见的胃肠道病原菌, 可致胃炎、胃溃疡及十二指肠溃疡等^[1]。研究表明, HP 感染可能与食管癌 (esophageal cancer, EC) 有关联。由 HP 感染引起的胃食管反流病^[2]与 EC 的发生有关^[3], 因为胃食管反流病可导致食管炎症和损伤, 最终增加 EC 的风险。然而, 有研究否定 HP 与 EC 之间的关联^[4], 例如 Cook 等^[5]未发现 HP 与 EC 之间的关联。由于研究结果存在分歧, 考虑我国 HP 感染率相对较高, 探索 HP 感染与 EC 发生的因果关系变得非常重要。

因果关系的探究一直是科学研究中的核心议题。孟德尔随机化 (Mendelian randomization, MR) 是一种利用遗传变异作为工具变量 (instrumental variable, IV) 来推断因果关系的强大统计方法。这种方法的可靠性主要基于其独特的原理和 3 条核心假设^[6]: ①相关性假设要求 IV [如基因单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphism, SNP)] 与暴露因素 (因果变量) 之间存在较强的相关性, 这是因为 IV 作为遗传标记, 其变异应能够有效预测个体间的暴露差异, SNP 是遗传变异的一种形式, 它们在人群中的分布具有随机性, 且在一定程度上与特定暴露因素相关, 只有当 IV 与暴露因素的相关性足够强时, 才能利用这些遗传变异作为 IV 来评估暴露因素与结局之间的因果关系; ②独立性假设要求 IV 与混淆因素无关, 即 IV 不应与可能影响结果的未观察到的因素相关联, 这一假设保证了 IV 的随机分配, 使其不受其他潜在混杂因素的影响, 在实际情况中, 许多因素可能同时影响暴露因素和结局, 如果 IV 与这些混淆因素相关, 那么它们将无法准确反映暴露因素

与结局之间的因果关系; ③排他性假设指出 IV 与结果 (即结局) 之间无直接关联, 仅通过影响暴露因素来影响结局, 这一假设确保了遗传变异对结局的影响完全是通过暴露因素介导的, 从而排除了 IV 对结局的直接影响。结合以上 3 点核心假设, MR 提供了一种强有力的证据支持特定风险因素与健康结局之间的因果关系。与传统流行病学研究相比, MR 的优势在于能够降低反向因果关系的可能性, 并减少由于遗漏变量导致的偏差。

因此本研究旨在采用 MR 方法, 基于大样本全基因组关联研究 (genome-wide association study, GWAS) 数据库, 使用 SNP 作为 IV, 系统探究 HP 感染与 EC 之间的因果关联。

1 资料和方法

1.1 资料

本研究从 <https://gwas.mrcieu.ac.uk/> 网站获取了 10 种关于暴露因素 HP 和 3 种关于结局变量 EC 的 GWAS 数据, 详细信息请参见表 1。为消除弱 IV 的影响, 本研究去除 $F < 10$ 的 SNP ($F = \frac{N-K-1}{K} \times \frac{R^2}{1-R^2}$ ^[7], $R^2 = \frac{2 \times EAF \times (1-EAF) \times \beta^2}{s^2}$ ^[8-9]), 其中 N 为暴露数据库中的样本量, K 为 SNP 的个数, R^2 为暴露数据库中由 SNP 解释的变异所占的比例, EAF 为效应等位基因频率, β 为等位基因效应值, s 为标准差)。本研究使用的 GWAS 数据的来源网站提供了经过整理和标准化的 GWAS 汇总统计数据, 是目前公开可获取的最新最全的 GWAS 数据库之一。根据表 1 可以确认, 所使用的 GWAS 数据都是

表1 两样本MR研究中GWAS数据库的简要信息

Table 1 Summary of the GWAS included in this two-sample MR study

Variable	GWAS ID	Year	Trait	Sample number	SNP number	Population
<i>Helicobacter pylori</i>	ukb-b-531	2018	Non - cancer illness code, self - reported <i>Helicobacter pylori</i>	462 933	9 851 867	European
Anti - <i>Helicobacter pylori</i> IgG levels	ieu-b-4905	2021	Anti- <i>Helicobacter pylori</i> IgG levels	4 683	7 247 045	European
Anti - <i>Helicobacter pylori</i> IgG seropositivity	ebi-a-GCST90006910	2020	Anti- <i>Helicobacter pylori</i> IgG seropositivity	8 735	9 170 312	European
Anti - <i>Helicobacter pylori</i> IgG levels	ebi-a-GCST006363	2018	Anti- <i>Helicobacter pylori</i> IgG levels	175	5 278 042	European
<i>Helicobacter pylori</i> GroEL antibody levels	ebi-a-GCST90006913	2020	<i>Helicobacter pylori</i> GroEL antibody levels	2 716	9 172 299	European
<i>Helicobacter pylori</i> OMP antibody levels	ebi-a-GCST90006914	2020	<i>Helicobacter pylori</i> OMP antibody levels	2 640	9 167 440	European
<i>Helicobacter pylori</i> urease antibody levels	ebi-a-GCST90006915	2020	<i>Helicobacter pylori</i> UREA antibody levels	2 251	9 170 248	European
<i>Helicobacter pylori</i> VacA antibody levels	ebi-a-GCST90006916	2020	<i>Helicobacter pylori</i> VacA antibody levels	1 571	9 178 635	European
<i>Helicobacter pylori</i> catalase antibody levels	ebi-a-GCST90006912	2020	<i>Helicobacter pylori</i> Catalase antibody levels	1 558	9 167 570	European
<i>Helicobacter pylori</i> CagA antibody levels	ebi-a-GCST90006911	2020	<i>Helicobacter pylori</i> CagA antibody levels	985	9 165 056	European
Oesophageal cancer	ieu-b-4960	2021	Oesophageal cancer	372 756	8 970 465	European
Esophageal cancer	ebi-a-GCST90018841	2021	Esophageal cancer	476 306	24 194 380	European
Esophageal adenocarcinoma	ebi-a-GCST003739	2016	Esophageal adenocarcinoma	21 271	12 911 041	European

最近几年的大型GWAS研究,样本量较大,因此本研究认为这些数据是可靠和权威的。本研究的分析均在R4.4.1版本中进行,两样本MR及反向MR部分主要利用“TwoSampleMR”包(版本号为0.6.7),贝叶斯加权MR基于<https://github.com/jiazhao97/BWMMR>里的代码源完成分析,Meta分析则基于“meta”包(版本号为8.0-1)。

1.2 方法

1.2.1 MR分析

本研究使用了两样本MR方法来评估HP与EC风险之间的因果关系。这种方法的建立基于3个主要假设^[10-11](图1):①IV与暴露HP相关;②IV没有混杂因素参与;③IV仅通过暴露HP而影响结局EC。本研究主要使用逆方差加权(inverse variance weighted, IVW)法,探讨HP与EC之间的因果联系。此外,本研究还使用了加权中位数(weighted median, WM)法、MR Egger法、Simple mode法、Weighted mode法以及贝叶斯加权MR进行补充。如果这5种不同MR方法

得出相似结果,则认为结果可靠。

1.2.2 敏感性分析

为了确保结果的稳定性和可靠性,本研究采取一系列综合方法来进行敏感性分析。首先,运用MR Egger回归法来评估潜在的方向多效性^[10]。其次,采用“留一法”(leave-one-out)敏感性分析,细致地评估了每一个IV对HP与EC之间因果关系的影响程度。此外,在水平多效性检测方面,采用MR-PRESSO方法来进一步确保研究结果不受混杂因素的影响^[12]。在评价SNP之间的异质性时,选择了Cochran's Q统计量作为异质性评价的工具^[13]。如果数据显示不存在显著异质性(即 $P > 0.05$),则采用固定效应模型进行MR分析;反之,在存在显著异质性的条件下,则使用随机效应模型来评估HP与EC之间的可能因果关系。

1.2.3 连锁不平衡分数回归(linkage disequilibrium score regression, LDSC)

本研究使用LDSC估计HP和EC的遗传相关

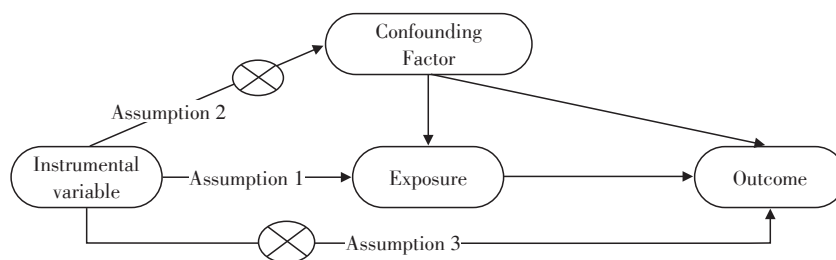


图1 两样本MR模型

Figure 1 Model of the two-sample MR analysis

性。GWAS的数据根据HapMap3参考资料进行筛选,调整次要等位基因频率(minor allele frequency, MAF),确保MAF值正确反映了较小的频率,确保等位基因标识符只包含标准的核苷酸碱基A、C、G、T,排除非SNP变异和重复的SNP,排除缺失P值和效应大小的数据,确保效应方向与参考等位基因一致,确保A1和A2与参考基因型匹配,排除不匹配的数据。LDSC通过考察检验统计量与连锁不平衡(linkage disequilibrium, LD)之间的关联来量化由真正的多基因信号或偏差所引起膨胀的贡献^[14]。该方法可以从GWAS摘要统计数据评估遗传相关性,并且不受样本重叠的偏见影响^[15]。从性状1的每个变异位点的z分数与性状2的每个变异位点的z分数相乘,由此得到的遗传协方差将这一乘积对LD分数进行回归估计^[16]。通过SNP-遗传度归一化的遗传协方差代表遗传相关性。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义,是遗传相关性的潜在证据。

MR的主要目的是为了找出可能的因果关系,当两个性状之间的遗传相关性较高(即 $P < 0.05$),这可能提示两个研究的性状在遗传水平上存在相互影响或共享一些遗传因素,这可能导致MR分析中的“遗传混杂”。 $P > 0.05$ 意味着在统计上两个研究的性状之间没有显示出显著的遗传相关性。在这种情况下,使用MR方法揭示其中一个性状对另一个性状可能有因果影响时,结果更具说服力,因为较低的遗传相关性可以减少遗传混杂的可能性^[17]。

2 结果

2.1 IV的选择结果

首先,设置暴露的强关联性 $P < 1.0 \times 10^{-5}$ (图2~4),然后去除存在LD的IV($r^2=0.001$, kb=10 000),计算其F值(均 >10),并提取结局数据进行合并,去除回文SNP(action=2),去除结局 $P < 1 \times 10^{-5}$ 的SNP以降低假阳性风险,为避免反向因果的干扰,去除Steiger检验不通过的SNP(其中ukb-b-531与ebi-a-GC-

ST003739合并后的数据未通过Steiger检验)。使用PhenoScanner数据库^[18]检索相关混杂(参数设置为: $P=1 \times 10^{-5}$, proxies=None, $r^2=0.8$, build=37),去除ebi-a-GCST90018841和ebi-a-GCST003739中高血压^[19](rs12899909)、ieu-b-4960中酒精^[20](rs7207400)等混杂SNP。将剩余数据进行MR-PRESSO检验,去除离群SNP。由于IV的个数不能 <3 个,否则无法进行MR分析,因此本研究删除ieu-b-4960与ukb-b-531合并后的数据(只有2个IV)。进行多效应检验(图5~7),未发现具有多效性的数据,多效性检验后剩下的SNP纳入最终的IV。

2.2 MR分析结果

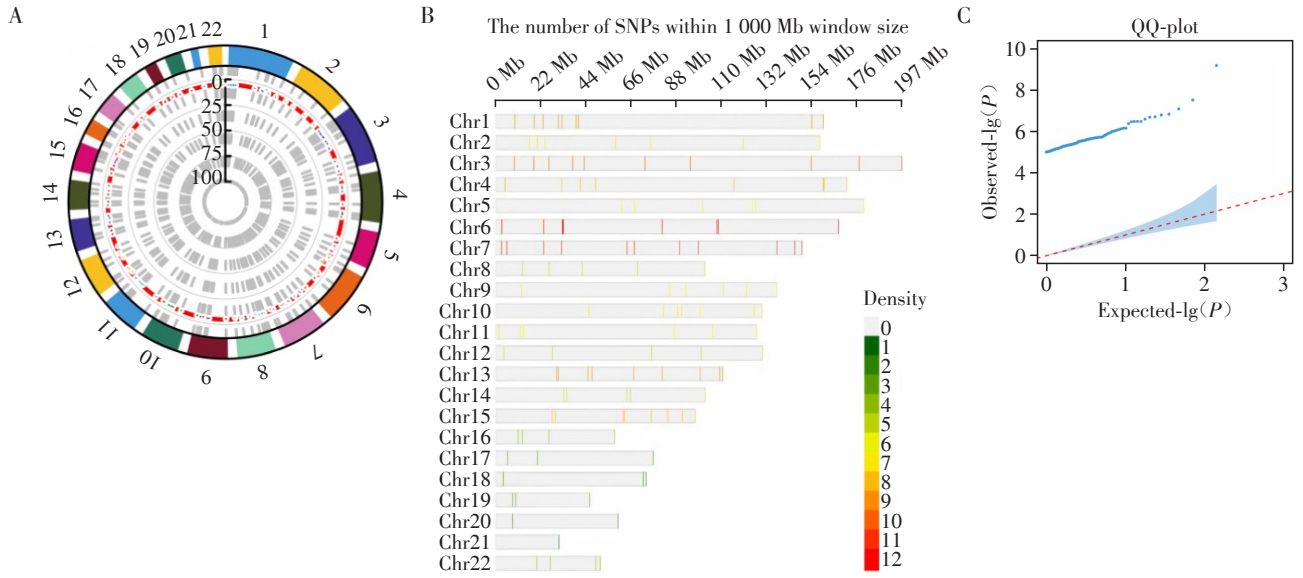
根据异质性选择固定效应模型或者随机效应模型,由于进行了多次假设性检验,其结果的假阳性率偏高,因此本研究还进行了结果的假阳性发现率(false discovery rate, FDR)矫正(图5~7),最终IVW法发现ieu-b-4905与ebi-a-GCST90018841之间的正相关性无论是在FDR矫正前还是矫正后都具有统计学意义($P < 0.05$),但ieu-b-4905与ieu-b-4960之间在FDR矫正前后却不存在有统计学意义的因果关联上。与此同时ebi-a-GCST90006914与ebi-a-GCST003739之间在FDR矫正前具有统计学意义但矫正后其负相关性无统计学意义。其余数据的MR分析结果均无统计学意义。5种MR分析方法结果详见图8。

2.3 敏感性分析

Cochran's Q检验结果的异质性详见图5~7。根据异质性本研究选择不同的IVW效应模型, $P > 0.05$ 时选择固定效应模型,反之选择随机效应模型。MR-PRESSO均显示 $P > 0.05$,即不存在离群值的影响。MR Egger回归截距显示不存在多效性(图5~7)。散点图、漏斗图、森林图、“留一法”分析均显示结果稳健(图9)。

2.4 贝叶斯加权MR

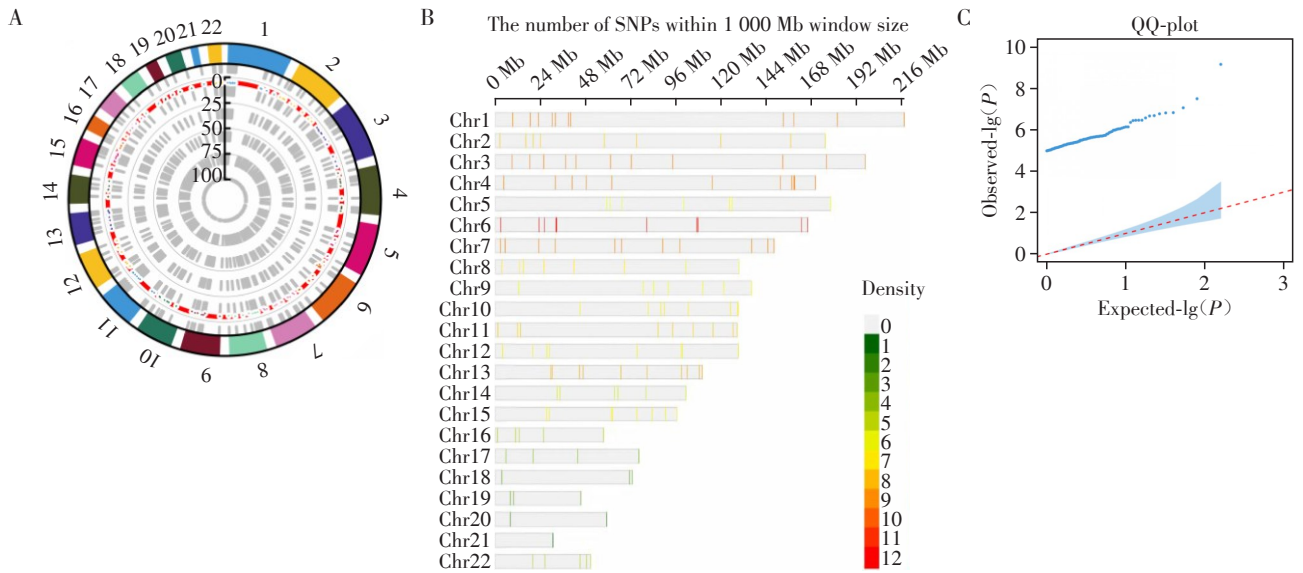
贝叶斯加权MR显示ieu-b-4905与ebi-a-GC-



A: Manhattan plot shows the chromosomal location of SNPs and their associated *P*-values. B: SNP density plot shows the distribution of SNPs across chromosomes. C: QQ plot shows the consistency between observed SNPs and expected distributions.

图2 ieu-b-4960数据里 SNP 位置及 *P* 值大小

Figure 2 SNP positions and *P* values in the ieu-b-4960 dataset



A: Manhattan plot shows the chromosomal location of SNPs and their associated *P*-values. B: SNP density plot shows the distribution of SNPs across chromosomes. C: QQ plot shows the consistency between observed SNPs and expected distribution.

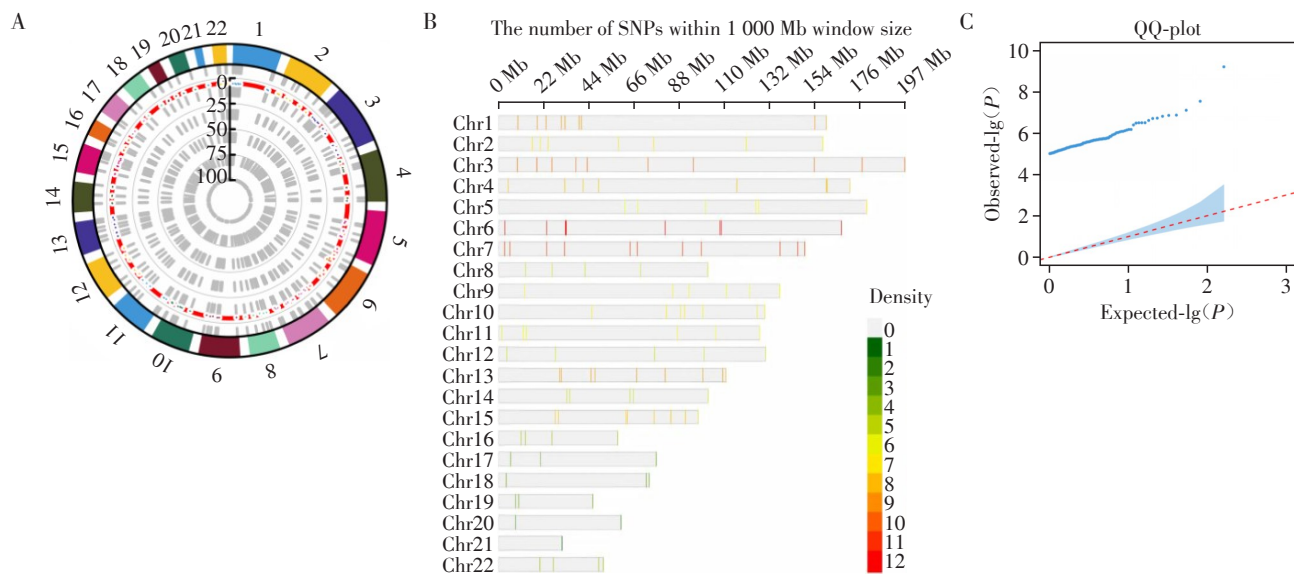
图3 ebi-a-GCST90018841数据里 SNP 位置及 *P* 值大小

Figure 3 SNP positions and *P* values in the ebi-a-GCST90018841 dataset

ST90018841 之间的正相关性在 FDR 矫正前具有统计学意义,但矫正后不具有统计学意义。同时,ebi-a-GCST90006914 与 ebi-a-GCST003739 之间在 FDR 矫正前具有统计学意义但矫正后其负相关性无统计学意义,其中 ukb-b-531 与 ebi-a-GCST90018841 因存在多重共线性无法进行贝叶斯加权 MR。其余数据均显示无统计学意义(图 10~12)。

2.5 Meta 分析

普通 MR 中 IVW 结果具有争议的 3 组 ieu-b-4905 结果数据进行 Meta 分析,并进行可视化处理,结果存在明显异质性 ($I^2=82\%$, $\tau^2=0.009\ 0$, $P < 0.01$),随机效应模型结果显示抗 HP IgG 水平与 EC 之间无显著相关性 [OR=1.091 7; 95% CI: 0.966 2~1.233 4, 图 13]。



A: Manhattan plot shows the chromosomal location of SNPs and their associated *P*-values. B: SNP density plot shows the distribution of SNPs across chromosomes. C: QQ plot shows the consistency between observed SNPs and expected distribution.

图4 ebi-a-GCST003739数据里SNP位置及*P*值大小

Figure 4 SNP positions and magnitude of *P* in the ebi-a-GCST003739 dataset

Exposure	<i>P</i> value	OR(95%CI)	Adjust <i>P</i>	Q_pval	Pleiotropy_pval
ebi-a-GCST006363	0.483 6	0.999 9(0.999 5-1.000 3)	1.000 0	0.294 8	0.467 3
ebi-a-GCST90006910	0.535 1	0.999 5(0.998 0-1.001 0)	0.963 1	0.605 6	0.529 5
ebi-a-GCST90006911	0.497 1	1.000 1(0.999 9-1.000 3)	1.000 0	0.478 2	0.670 0
ebi-a-GCST90006912	0.569 2	0.999 9(0.999 6-1.000 2)	0.853 8	0.706 1	0.378 1
ebi-a-GCST90006913	0.322 4	1.000 4(0.999 6-1.001 1)	1.000 1	0.772 6	0.316 1
ebi-a-GCST90006914	0.581 0	1.000 1(0.999 7-1.000 5)	0.747 0	0.106 4	0.425 3
ebi-a-GCST90006915	0.995 6	1.000 0(0.999 6-1.000 4)	0.995 6	0.028 9	0.104 7
ebi-a-GCST90006916	0.520 2	0.999 9(0.999 7-1.000 2)	1.000 0	0.969 0	0.514 6
ebi-b-4905	0.647 4	0.999 9(0.999 5-1.000 3)	0.728 4	0.452 6	0.497 1

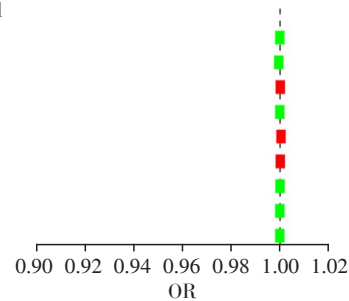


图5 ieu-b-4960数据的IVW法、多效性及异质性检测结果

Figure 5 Results of the IVW method, pleiotropy, and heterogeneity tests for the ieu-b-4960 data

Exposure	<i>P</i> value	OR(95%CI)	Adjust <i>P</i>	Q_pval	Pleiotropy_pval
ebi-a-GCST006363	0.096	0.901(0.797-1.019)	0.240	0.397	0.801
ebi-a-GCST90006910	0.903	1.028(0.665-1.587)	0.903	0.865	0.564
ebi-a-GCST90006911	0.775	0.991(0.930-1.056)	1.000	0.724	0.754
ebi-a-GCST90006912	0.636	1.011(0.908-1.127)	0.929	0.839	0.978
ebi-a-GCST90006913	0.054	1.232(0.996-1.523)	0.272	0.612	0.636
ebi-a-GCST90006914	0.279	1.071(0.946-1.213)	0.558	0.620	0.379
ebi-a-GCST90006915	0.091	1.079(0.988-1.178)	0.305	0.531	0.103
ebi-a-GCST90006916	0.780	0.989(0.915-1.069)	0.974	0.648	0.626
ebi-b-4905	0.005	1.233(1.067-1.425)	0.045	0.704	0.353
ukb-b-531	0.650	0.001(0.001-1.128)	1.000	0.449	0.516

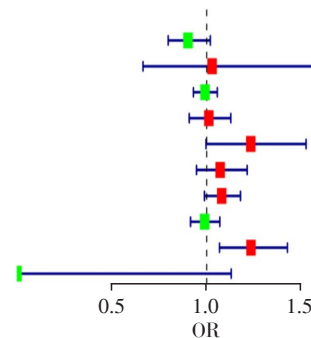


图6 ebi-a-GCST90018841数据的IVW法、多效性及异质性检测结果

Figure 6 Results of the IVW method, pleiotropy, and heterogeneity tests for the ebi-a-GCST90018841 data

2.6 反向MR

为了进一步排除反向因果的可能性,本研究除了采用Steiger检验外,还将EC作为暴露因素,HP作为结局因素,进行反向MR分析。通过选择与EC强

相关的SNP作为工具变量,并严格控制遗传标记的独立性($P < 1.0 \times 10^{-5}$)和LD($r^2 = 0.001$, kb = 10 000),最终结果显示,在经过FDR矫正后,未发现EC与HP之间存在统计学意义的关联。这一结果有力地支持

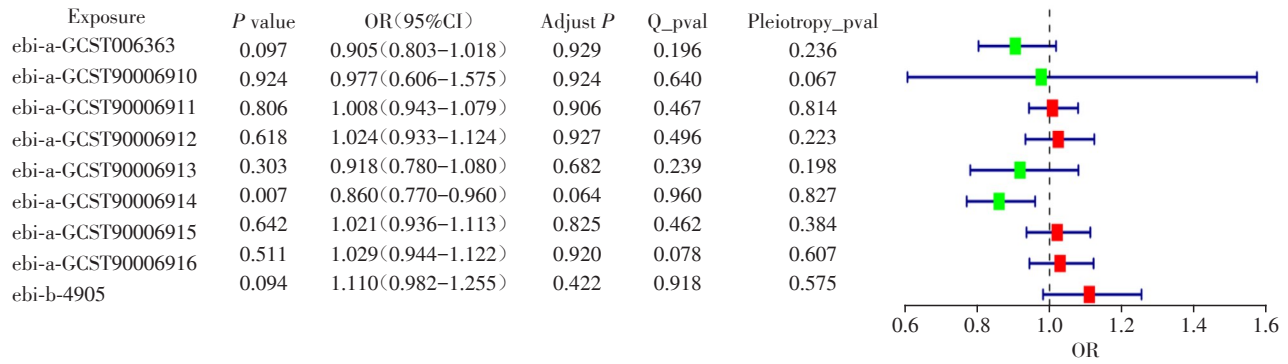
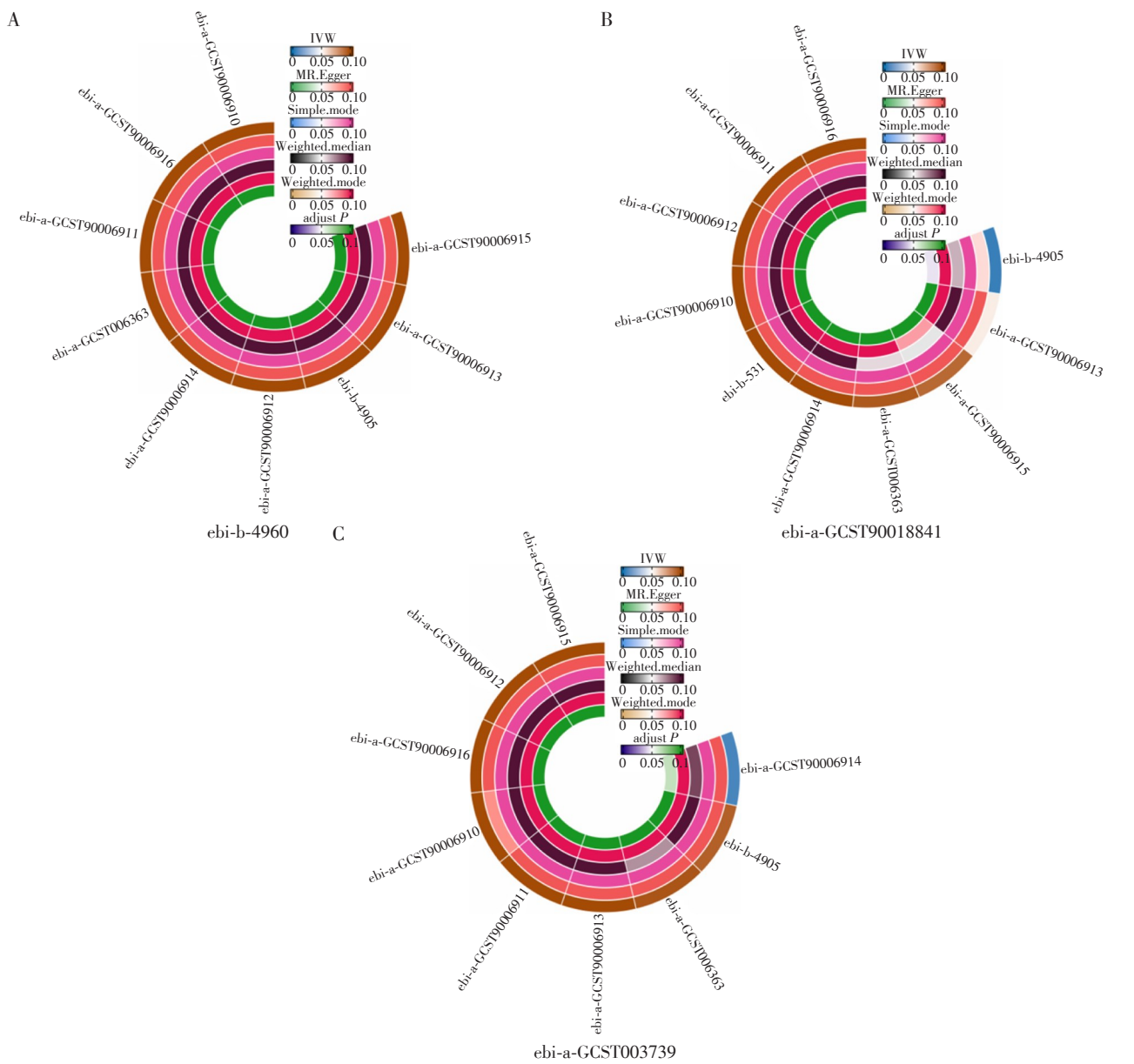


图7 ebi-a-GCST003739数据的IVW法、多效性及异质性检测结果

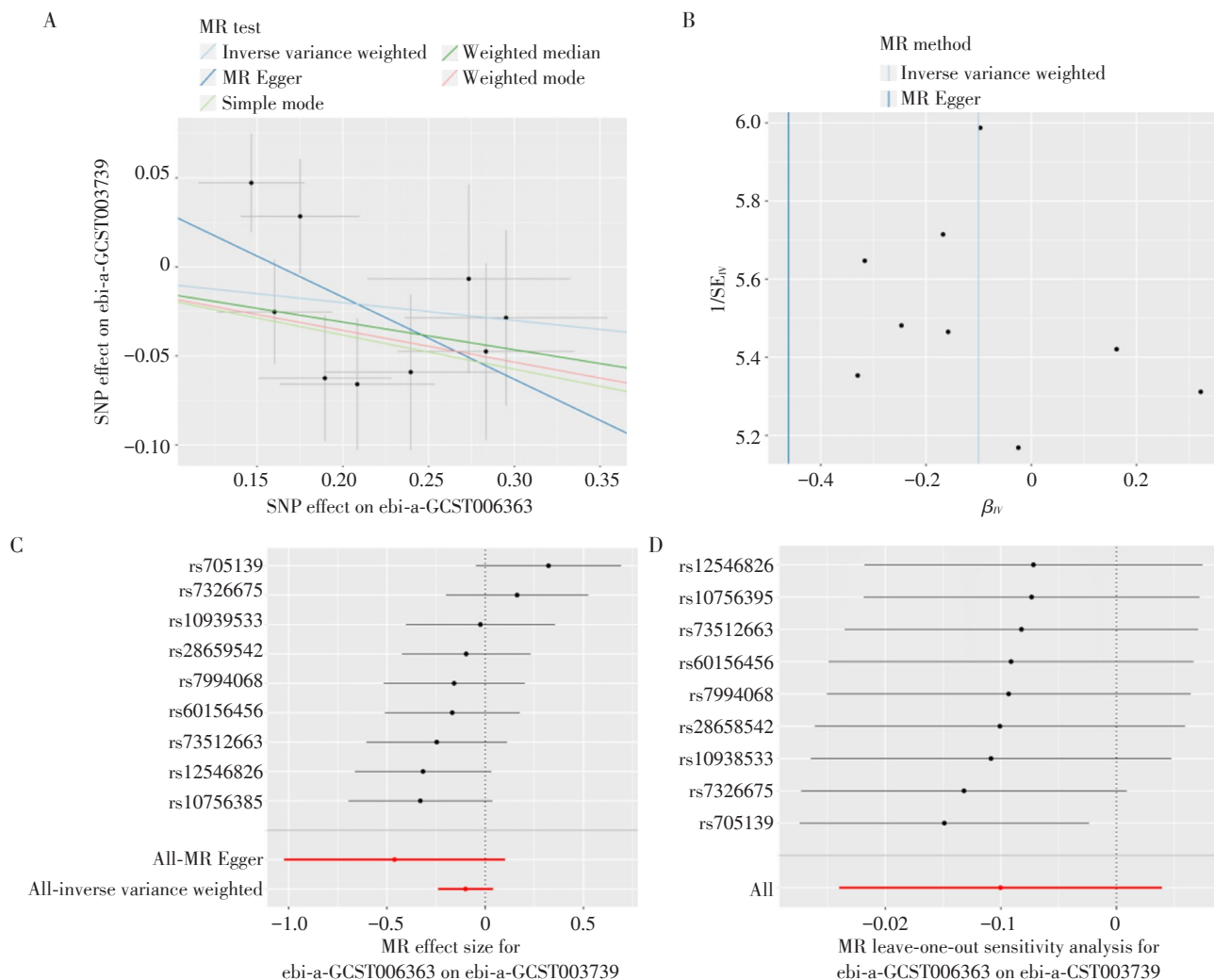
Figure 7 Results of the IVW method, pleiotropy, and heterogeneity tests for the ebi-a-GCST003739 data



A: Five analysis methods and their correction results for ieu-b-4960. B: Five analysis methods and their correction results for ebi-a-GCST90018841. C: Five analysis methods and their correction results for ebi-a-GCST003739.

图8 5种分析方法及矫正结果

Figure 8 Five analysis methods and their correction results



A: Scatter plot B for sensitivity analysis. B: Funnel plot for sensitivity analysis. C: Forest plot for sensitivity analysis. D: Leave-one-out plot for sensitivity analysis.

图9 ebi-a-GCST00373的4种敏感性分析图

Figure 9 Sensitivity analysis plots for ebi-a-GCST00373 by four methods

Exposure	P value	OR(95%CI)	Adjust P	β
ebi-a-GCST006363	0.513	1.000(0.999-1.000)	1.000	-0.000
ebi-a-GCST90006910	0.530	0.999(0.998-1.001)	1.000	-0.001
ebi-a-GCST90006911	0.530	1.000(1.000-1.000)	1.000	0.000
ebi-a-GCST90006912	0.610	1.000(1.000-1.000)	0.914	-0.000
ebi-a-GCST90006913	0.300	1.000(1.000-1.001)	1.000	0.000
ebi-a-GCST90006914	0.778	1.000(1.000-1.001)	0.778	0.000
ebi-a-GCST90006915	0.710	1.000(0.999-1.000)	0.799	-0.000
ebi-a-GCST90006916	0.546	1.000(1.000-1.000)	0.982	-0.000
ebi-b-4905	0.697	1.000(0.999-1.000)	0.896	-0.000

图10 ieu-b-4960的贝叶斯加权孟德尔随机化及FDR校正的结果

Figure 10 Results of the Bayesian weighted Mendelian randomization and FDR correction for ieu-b-4960

了HP与EC之间不存在因果关系的结论,进一步排除了反向因果的可能性,增强了研究结果的可靠性。

2.7 LDSC 结果

本研究进行了LDSC分析以评估HP与EC的遗传

相关性。由于遗传度低等限制,ebi-a-GCST90006916、ebi-a-GCST90006912、ebi-a-GCST90006911不能用于上述分析。最终,本研究发现ebi-a-GCST003739和 ebi-a-GCST90006910、ebi-a-GCST003739 和

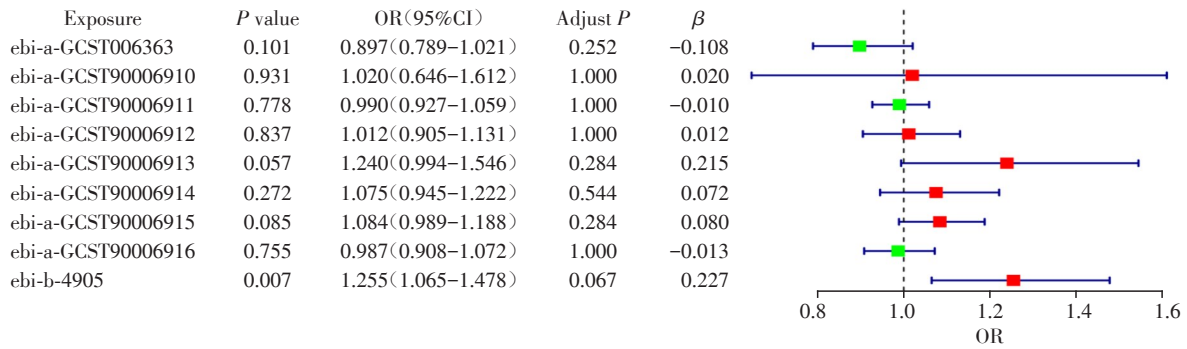


图 11 ebi-a-GCST90018841 贝叶斯加权孟德尔随机化及 FDR 校正的结果

Figure 11 Results of the Bayesian weighted Mendelian randomization and FDR correction for ebi-a-GCST90018841

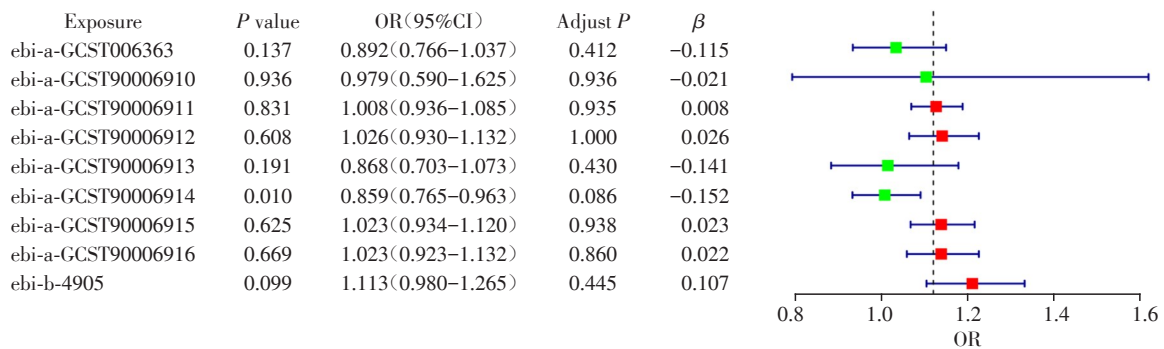


图 12 ebi-a-GCST003739 贝叶斯加权孟德尔随机化及 FDR 校正的结果

Figure 12 Results of the Bayesian weighted Mendelian randomization and FDR correction for ebi-a-GCST003739

ebi-a-GCST90006913 这两组数据之间的 LDSC 存在统计学意义 ($P < 0.05$), 但其余数据组合均不存在统计学意义 (图 14)。

3 讨论

EC 是中国第三大常见癌症, 病死率位居第 4, 且预后较差^[21-23]。根据全球癌症数据, EC 在全球范围内发病率排名第 7 位, 病死率排名第 6 位^[24]。已知 EC 的风险因素包括吸烟、肥胖、饮食习惯、饮酒以及上消化道微生物生态失调^[25-30]。在这些因素中, HP 感染与 EC 的关系也引起了广泛关注。部分研究认为, HP 感染可能通过引发胃食管反流病增加

食管炎症, 从而增加 EC 的发生风险^[4]; 然而, 也有研究未发现 HP 感染与 EC 之间存在显著关联^[5]。鉴于现有研究结果的分歧性, 本研究采用 MR 方法, 探索 HP 感染与 EC 之间的因果关系。

本研究通过 IVW、WM、MR Egger 回归等多种 MR 方法, 并结合 FDR 校正对结果进行了全面评估。结果表明, 尽管在部分分析中, HP 感染与 EC 的某些数据集呈现出统计学上的正相关性 ($P < 0.05$), 但在进行 Meta 分析后, HP 感染与 EC 之间并无显著的因果关系。反向 MR 分析及 Steiger 检验进一步支持了这一结论, 排除了反向因果关系的可能性。敏感性分析也表明, 研究结果具有较高的稳健性。

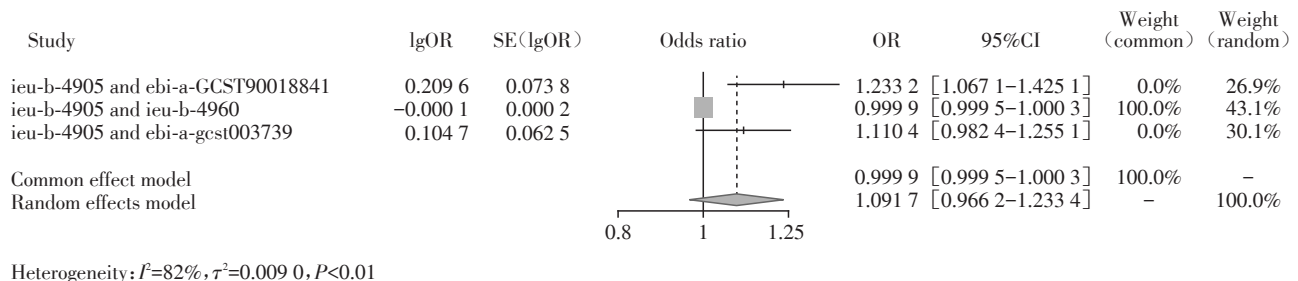
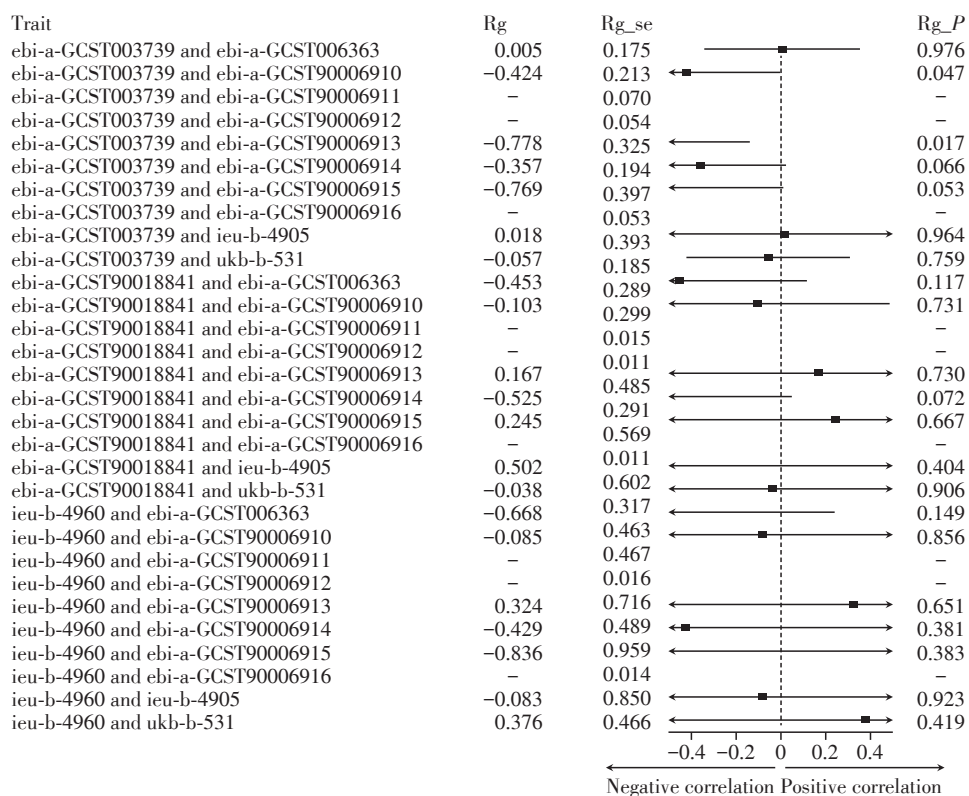


图 13 对 IVW 结果中的 ieu-b-4905 数据进行 Meta 分析

Figure 13 Meta-analysis on the ieu-b-4905 data in the IVW results



Rg: genetic correlation coefficient. Rg_se: standard error of the genetic correlation. Rg_P: P value of the genetic correlation.

图 14 连锁不平衡分数回归分析结果

Figure 14 Results of linkage disequilibrium score regression analysis

在分析抗 HP IgG 水平(ieu-b-4905)与 EC(ebi-a-GCST90018841 及 ieu-b-4960)之间的潜在因果关系时, IVW 方法显示出 ieu-b-4905 与 ebi-a-GCST90018841 之间存在统计学显著的正相关性($P < 0.05$), 且这一结果在 FDR 校正前后均具有一致性。然而, ieu-b-4905 与 ieu-b-4960 之间的分析未在 FDR 校正前后显示出显著的因果关系, 提示在不同的 EC 数据集中, 相同生物标志的因果关系表现可能存在差异。为进一步探讨 ieu-b-4905 在不同 EC 数据集之间的差异性, 本研究进行了 Meta 分析。结果显示, ieu-b-4905 与 EC 之间未呈现显著的相关性, 进一步支持了上述分析中发现的非一致性结果。特别是在不同的 EC 数据集之间, HP 感染的因果关系表现出显著差异, 这可能与数据集特异性和样本选择偏倚相关。这些发现强调了在 MR 研究中采用多种独立数据集和统计方法的重要性, 有助于评估和确认研究结果的普适性和可重复性。

为进一步分析暴露与结局之间的遗传相关性, 本研究还进行了 HP 与 EC 之间的 LDSC 分析。结果显示, 抗 HP IgG 血清阳性(ebi-a-GCST90006910)和 HP GroEL 抗体水平(ebi-a-GCST90006913)与食管腺癌

(esophagus adenocarcinoma, EAC)(ebi-a-GCST003739)之间存在潜在的遗传相关性, 且趋向负相关。然而, MR 分析未能对这些关联进行因果推断, 并未发现统计学意义上的负相关性。

与过去的研究报告相比, 当前研究展示了 HP 感染与食管鳞癌(esophageal squamous cell carcinoma, ESCC)风险相关的复杂性。先前研究中, Ye 等^[31]提出 CagA 阳性的 HP 菌株感染可能增加 EC 的风险。卢玉娟等^[32]研究也发现, HP 感染可能通过增加 COX-2 mRNA 的表达量, 特别是在 COX-2 3' UTR+8473C 等位基因上, 显著提高 EC 的发病风险。这些发现支持了 HP 感染可能增加 ESCC 风险的假设。然而, 也有研究结果与之相反, 发现 HP 感染与降低 ESCC 风险相关, 这可能与 HP 诱导的细胞凋亡有关^[33]。此外, 还有研究未发现 HP 感染与 ESCC 之间的显著关联, 这表明 HP 与 ESCC 关系的研究结果存在较大争议^[34]。这些差异可能由于研究设计、样本选择、地区差异及统计方法的不同而产生。本研究通过 MR 方法分析了 EC 的 3 个不同数据集的 GWAS 数据, 虽未发现 HP 与 EC 存在显著关联, 但这些结果强调了在更广泛的人群中采用统一的 HP 检

测方法进行进一步研究的必要性。

对于HP与EAC的关系,存在相似的争议。尽管有研究显示HP感染通过增加尾型同源框转录因子2和黏蛋白2基因的表达可能增加EAC的发生风险^[2,35],广泛的Meta分析则倾向认为HP是EAC的潜在保护因素,这可能与HP感染引起的胃体萎缩及胃酸反流减少有关,从而减少Barrett食管及其演变为EAC的风险^[36]。本研究未能在统计学上发现HP与EAC之间的显著关联。这一结果与一些Meta分析的发现一致,如Gao等^[37]的Meta分析显示,HP感染与EC(包括EAC)无显著相关性。这可能是由于样本选择、地理和遗传背景差异导致的。

本研究也有一些不足和局限:①GWAS数据仅涉及欧洲人群,这主要是由于目前公开的GWAS数据以欧洲人群为主,亚洲人群相关的GWAS数据较匮乏。为了确保结果的可靠性,本研究使用了多个GWAS数据集进行Meta分析,以降低人群差异带来的影响。②研究中纳入了部分HP抗体水平,但未覆盖全部,未来需要进行更广泛的研究。③未将EC亚型单独与HP进行MR分析,可能存在各亚型与HP之间的因果关联,需要进一步完善研究。④各组中SNP数量较少,未来需纳入更多SNP进行MR分析以验证结果。在当前的GWAS数据中,因部分性别数据缺失,无法做到精准分层分析,从而无法确定是否存在性别异质性。

尽管本研究为保证结果的可靠性运用了多种MR分析方法,但Meta分析仅纳入3个研究数据,且异质性显著,还是难以得到较为可靠的结果。未来研究将着重于以下改进:①扩大样本量与数据集整合,纳入更多高质量的GWAS数据,提升Meta分析的统计效能,并通过统一标准减少异质性。②细化数据分析,针对EC的不同病理亚型进行分层分析,深入探讨HP感染在不同亚型中的作用机制与因果关系。③探索HP感染的分子机制,结合表观遗传学和蛋白质组学数据,研究其可能引发的生物通路变化及与EC发生发展的关联。④开展大样本、长期随访的前瞻性队列研究,进一步验证HP感染与EC之间的时间序列和因果关系,补充MR方法的遗传学证据。

本研究通过运用常规两样本MR方法、贝叶斯加权MR方法以及随后的Meta分析、反向MR、LDSC,从基因水平对HP感染与EC之间的风险关系进行了全面而细致的评估。本研究结果表明,在基因层面上,HP与EC之间似乎并不存在因果联系。

然而,为了确认这一发现,还需要更大规模的GWAS数据来进行MR分析。如果未来研究能够证实HP与EC之间确实存在因果关系,这将对EC的早期筛查和治疗方案的制定具有重要意义,有助于降低人群EC的发病率。

致谢:

感谢IEU Open GWAS的公开数据集及有关工作人员的努力。感谢论文写作过程中导师及科室同事的指导和大力支持。

Acknowledgments:

We would like to thank the IEU Open GWAS for providing the public dataset and acknowledge the efforts of the relevant staff. We also express our gratitude to the supervisor and colleagues in the department for their guidance and strong support during the writing of this paper.

利益冲突声明:

所有作者声明无利益冲突。

Conflict of Interests:

All authors declare no conflict of interests.

作者贡献声明:

杜凯豪负责研究设计、数据收集、数据分析、文章撰写;东小鸽负责数据处理、图形的可视化、文章修改;罗兰明慧、蒋威、汪占金负责数据内容的校对、文章修改;薛伟伟负责文章修改;侯立朝、王展负责拟定写作思路,指导撰写文章及最后定稿。

Author's Contributions:

DU Kaihao was responsible for research design, data collection, data analysis, and article writing; DONG Xiaoge was responsible for data processing, data visualization, and article revision; LUO Lanminghui, JIANG Wei, and WANG Zhanjin were responsible for data proofreading and article revision; XUE Weiwei was responsible for article revision; HOU Lizhao and WANG Zhan were responsible for drafting strategy, guiding article writing and final revision.

[参考文献]

- [1] MALFERTHEINER P, CAMARGO M C, ELOMAR E, et al. *Helicobacter pylori* infection[J]. Nat Rev Dis Primers, 2023, 9: 1-24
- [2] 朱曼, 张倩, 金珍婧. 幽门螺杆菌感染与食管疾病相关性的研究进展[J]. 国际老年医学杂志, 2020, 41(1): 57-61
ZHU M, ZHANG Q, JIN Z J. Research progress on the correlation between *Helicobacter pylori* infection and esophageal diseases [J]. Journal of International Geriatrics, 2020, 41(1): 57-61
- [3] DISIENA M, PERELMAN A, BIRK J, et al. Esophageal cancer: an updated review [J]. South Med J, 2021, 114(3): 161-168

- [4] NIE S, CHEN T, YANG X, et al. Association of *Helicobacter pylori* infection with esophageal adenocarcinoma and squamous cell carcinoma: a meta-analysis [J]. *Dis Esophagus*, 2014, 27(7): 645-653
- [5] COOK M B, DAWSEY S M, DIAW L, et al. Serum pepsinogens and *Helicobacter pylori* in relation to the risk of esophageal squamous cell carcinoma in the alpha-tocopherol, beta-carotene cancer prevention study [J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2010, 19(8): 1966-1975
- [6] 沈笑荔,姜 玥,何炎芮,等.端粒长度与食管癌发生风险的孟德尔随机化研究[J].南京医科大学学报(自然科学版),2020,40(4):496-501
SHEN X L, JIANG Y, HE Y R, et al. Mendelian randomization study on the relationship between telomere length and esophageal cancer risk [J]. *Journal of Nanjing Medical University (Natural Sciences)*, 2020, 40(4): 496-501
- [7] 杜凯豪,侯立朝,罗兰明慧,等.孟德尔随机化在胰腺癌研究中的应用现状与展望[J].临床肝胆病杂志,2024,40(10):2127-2136
DU K H, HOU L Z, LUO L M H, et al. Current status and prospects of mendelian randomization in pancreatic cancer research [J]. *Journal of Clinical Hepatology and Biliary Diseases*, 2024, 40(10): 2127-2136
- [8] 柴红强,庞 磊,吴 明,等.利用两样本孟德尔随机化方法探究茶摄入量与膀胱癌发病风险的因果关系[J].现代肿瘤医学,2023,31(18):3450-3454
CHAI H Q, PANG L, WU M, et al. Investigating the causal relationship between tea intake and bladder cancer risk using two-sample Mendelian randomization [J]. *Modern Oncology*, 2023, 31(18): 3450-3454
- [9] 王世浩,付 赛,赵 宇,等.两样本孟德尔随机化研究肾功能对骨质疏松症的因果关系[J].现代预防医学,2022,49(9):1537-1542
WANG S H, FU S, ZHAO Y, et al. Two-sample Mendelian randomization study on the causal relationship between kidney function and osteoporosis [J]. *Modern Preventive Medicine*, 2022, 49(9): 1537-1542
- [10] LU Y, WANG P, LIU H Y, et al. Coffee and risk of pancreatic cancer: insights from two-sample and multivariable Mendelian randomization analyses [J]. *Nutrients*, 2024, 16(21): 3723
- [11] 韩天润,徐 樱,许 斌.肝脏铁含量、肝脏脂肪百分比和肝脏体积与肝细胞癌之间的因果关系:一项孟德尔随机化研究[J].辽宁中医杂志,2024,51(12):1-8
HAN T R, XU Y, XU B. Causal relationship between liver iron content, liver fat percentage, liver volume, and hepatocellular carcinoma: a Mendelian randomization study [J]. *Liaoning Journal of Traditional Chinese Medicine*, 2024, 51(12): 1-8
- [12] LI P S, WANG H Y, GUO L, et al. Association between gut microbiota and preeclampsia-eclampsia: a two-sample Mendelian randomization study [J]. *BMC Med*, 2022, 20(1): 443
- [13] CAO Y, LU H, XU W Z, et al. Gut microbiota and Sjögren's syndrome: a two-sample Mendelian randomization study [J]. *Front Immunol*, 2023, 14: 1187906
- [14] CUI G H, LI S J, YE H, et al. Gut microbiome and frailty: insight from genetic correlation and Mendelian randomization [J]. *Gut Microbes*, 2023, 15(2): 2282795
- [15] BULIK-SULLIVAN B, FINUCANE H K, ANTTILA V, et al. An atlas of genetic correlations across human diseases and traits [J]. *Nat Genet*, 2015, 47(11): 1236-1241
- [16] WIELSCHER M, AMARAL A F S, VAN DER PLAAT D, et al. Genetic correlation and causal relationships between cardio-metabolic traits and lung function impairment [J]. *Genome Med*, 2021, 13(1): 104
- [17] GUO R L, FENG R Y, YANG J, et al. Genetic correlation and Mendelian randomization analyses support causal relationships between dietary habits and age at menarche [J]. *Sci Rep*, 2024, 14(1): 8425
- [18] KUPPA A, TRIPATHI H, AL-DARRAJI A, et al. C-reactive protein levels and risk of cardiovascular diseases: a two-sample bidirectional Mendelian randomization study [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(11): 9129
- [19] SEO J H, KIM Y D, PARK C S, et al. Hypertension is associated with oral, laryngeal, and esophageal cancer: a nationwide population-based study [J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1): 10291
- [20] LI N J, SOHAL D. Current state of the art: immunotherapy in esophageal cancer and gastroesophageal junction cancer [J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2023, 72(12): 3939-3952
- [21] 卢荣鑫,刘锦源,薛 磊,等.解剖系膜法在胸腔镜食管癌左喉返神经链淋巴结清扫中的应用[J].南京医科大学学报(自然科学版),2024,44(3):367-371
LU R X, LIU J Y, XUE L, et al. Application of the anatomical mesenteric approach in lymph node dissection of the left recurrent laryngeal nerve chain during thoracoscopic esophageal cancer surgery [J]. *Journal of Nanjing Medical University (Natural Sciences)*, 2024, 44(3): 367-371
- [22] 卢荣鑫,刘锦源,薛 磊,等.非治愈性ESD治疗对追加食管癌根治术后并发症的影响[J].南京医科大学学报(自然科学版),2024,44(11):1586-1589
LU R X, LIU J Y, XUE L, et al. Effect of non-curative ESD treatment on postoperative complications after esophagectomy for esophageal cancer [J]. *Journal of Nanjing Medical University (Natural Sciences)*, 2024, 44(11):

- 1586–1589
- [23] 黄家晖, 顾莹莹, 沈楠, 等. PET/CT在食管癌中的应用进展[J]. 南京医科大学学报(自然科学版), 2023, 43(6): 876–880
HUANG J H, GU Y Y, SHEN N, et al. Progress in the application of PET/CT in esophageal cancer[J]. Journal of Nanjing Medical University (Natural Sciences), 2023, 43(6): 876–880
- [24] SUNG H, FERLAY J, SIEGEL R L, 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
- [25] QI Y J, JIAO Y L, CHEN P, et al. Porphyromonas gingivalis promotes progression of esophageal squamous cell cancer via TGF β -dependent Smad/YAP/TAZ signaling[J]. PLoS Biol, 2020, 18(9): e3000825
- [26] LIU X Y, LI B, LIANG L P, et al. From microbes to medicine: harnessing the power of the microbiome in esophageal cancer[J]. Front Immunol, 2024, 15: 1450927
- [27] SASSANO M, NALINI M, SEYYEDSALEHI M S, et al. Body size and occupational physical activity during the life course and gastrointestinal cancers[J/OL]. Am J Epidemiol, 2024[2024-11-29]. DOI: 10.1093/aje/kwae438
- [28] LEI J M, WU L. Impact of breakfast skipping on esophageal health: a Mendelian randomization study[J]. Clin Nutr ESPEN, 2024, 65: 86–92
- [29] MAIMOUNI C E, CÓRDOVA H, FELIZ-RUIZ S, et al. Association of esophageal squamous cell carcinoma with head and neck cancer[J/OL]. Gastroenterol Hepatol, 2024[2024-12-09]. DOI: 10.1016/j.gastrohep. 2024. 502318
- [30] MOE K T, TAN K S W. Mechanistic insights on microbiota-mediated development and progression of esophageal cancer[J]. Cancers, 2024, 16(19): 3305
- [31] YE W M, HELD M, LAGERGREN J, et al. *Helicobacter pylori* infection and gastric atrophy: risk of adenocarcinoma and squamous-cell carcinoma of the esophagus and adenocarcinoma of the gastric cardia[J]. J Natl Cancer Inst, 2004, 96(5): 388–396
- [32] 卢玉娟, 张红岩, 代素梅, 等. 环氧合酶2'非翻译区+8473T>C基因多态性及其与吸烟、幽门螺杆菌感染的交互作用对食管癌发病的影响研究[J]. 中国全科医学, 2013, 16(19): 1733–1736
LU Y J, ZHANG H Y, DAI S M, et al. Study on the effect of cyclooxygenase - 2 3' untranslated region + 8473T>C gene polymorphism and its interaction with smoking and helicobacter pylori infection on esophageal cancer risk[J]. Chinese General Practice, 2013, 16(19): 1733–1736
- [33] KHOSHBATEN M, ZADIMANI A, BONYADI M R, et al. *Helicobacter pylori* infection reduces the risk of esophageal squamous cell carcinoma: a case-control study in Iran[J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2011, 12(1): 149–151
- [34] XIE F J, ZHANG Y P, ZHENG Q Q, et al. *Helicobacter pylori* infection and esophageal cancer risk: an updated meta-analysis[J]. World J Gastroenterol, 2013, 19(36): 6098–6107
- [35] JONAITIS L, KRIUKAS D, KIUDELIS G, et al. Risk factors for erosive esophagitis and Barrett's esophagus in a high *Helicobacter pylori* prevalence area[J]. Medicina, 2011, 47(8): 434–439
- [36] HOLLECZEK B, SCHÖTTKER B, BRENNER H. *Helicobacter pylori* infection, chronic atrophic gastritis and risk of stomach and esophagus cancer: results from the prospective population-based ESTHER cohort study[J]. Int J Cancer, 2020, 146(10): 2773–2783
- [37] GAO H Q, LI L N, ZHANG C J, et al. Systematic review with meta-analysis: association of *Helicobacter pylori* infection with esophageal cancer[J]. Gastroenterol Res Pract, 2019, 2019: 1953497

[收稿日期] 2024-08-28

(本文编辑: 陈汐敏)



欢迎投稿 欢迎订阅