

[文章编号] 1671-587X(2024)03-0778-08

DOI:10.13481/j.1671-587X.20240322

## 基于生活方式与肝胆恶性肿瘤发生发展因果关系的孟德尔 随机化研究

刘华青, 陈庆凯, 陈永新, 邱润昊, 丁绪鹏, 宋奉京, 王岩, 王葆林, 曹宏  
(吉林大学中日联谊医院新民院区普通外科, 吉林 长春 130021)

**[摘要]** **目的:** 探讨使用孟德尔随机化研究方法分析生活方式与肝胆恶性肿瘤发生发展的因果关系, 为肝胆恶性肿瘤预防和治疗提供潜在临床证据。**方法:** 纳入相互独立的大规模全基因组关联研究(GWAS)汇总数据, 设定七步纳入标准进行工具变量筛选。暴露的生活方式包括饮食中碳水化合物摄入百分率、脂肪摄入百分率、蛋白质摄入百分率、咖啡摄入量、每周饮酒次数、闲暇时电子屏幕接触时间、闲暇时中高强度体育运动(MVPA)、工作时的久坐行为、首次吸烟年龄、每日吸烟数量、目前吸烟状态和既往吸烟状态共12种表型。采用逆方差加权法(IVW)的随机效应模型作为主分析方法, 采用Cochrane's Q检验评估异质性, 采用MR-Egger截距法检验水平多效性。**结果:** 目前吸烟状态与易患肝外胆管癌呈显著因果关系(OR=1.607, 95%CI: 1.113~2.322, P=0.011)。咖啡摄入量较高与患肝癌及肝内胆管癌的较高风险有显著因果关系(OR=1.000, 95%CI: 0.999~1.000, P=0.012)。在体育活动中, 较多的MVPA与患肝癌及肝内胆管癌的较低风险具有显著因果关系(OR=0.998, 95%CI: 0.996~0.999, P=0.002)。Cochrane's Q检验提示MVPA与肝外胆管癌(Q=18.354, P=0.049)和蛋白质摄入百分率与肝癌及肝内胆管癌(Q=12.715, P=0.026)具有轻度异质性, MR-Egger截距法显示本研究无水平多效性。**结论:** 目前吸烟状态与患肝外胆管癌的高风险具有因果关系, 较多的MVPA与患肝癌及肝内胆管癌的较低风险具有因果关系。对患者进行适当的戒烟劝导和体育运动教育可能会为预防肝胆恶性肿瘤提供潜在益处。

**[关键词]** 生活方式; 肝内胆管肿瘤; 胆管肿瘤; 肝肿瘤; 孟德尔随机化研究

**[中图分类号]** R735 **[文献标志码]** A

## Mendelian randomization study based on relationship between lifestyle and occurrence and development of hepatobiliary malignancies

LIU Huaqing, CHEN Qingkai, CHEN Yongxin, QIU Runhao, DING Xupeng, SONG Fengjing,  
WANG Yan, WANG Baolin, CAO Hong  
(Department of General Surgery, Xinmin District, China-Japan Union Hospital,  
Jilin University, Changchun 130021, China)

**ABSTRACT Objective:** To analyze the causal relationship between lifestyle-based factors and the occurrence and development of hepatobiliary malignancies by Mendelian randomization study method, and to provide the potential clinical evidence for the prevention and treatment of hepatobiliary malignancies.

**[收稿日期]** 2023-06-29

**[基金项目]** 吉林省教育厅科学技术研究项目(JJKH20211062KJ)

**[作者简介]** 刘华青(1997-), 男, 河南省南阳市人, 在读硕士研究生, 主要从事普外科肿瘤基础和临床方面的研究。

**[通信作者]** 曹宏, 教授, 硕士研究生导师(E-mail: caohong1967@163.com)

**Methods:** The data from large-scale, independent genome-wide association studies (GWAS) were selected, and seven-step inclusion criteria for the instrumental variable screening were set up. The exposure lifestyles included the percentage of carbohydrate intake, percentage of fat intake, percentage of protein intake in the diet, coffee intake, weekly alcohol consumption times, leisure electronic screen exposure time, moderate to vigorous intensity physical activity (MVPA) during leisure time, sedentary behavior at work, age at first smoking, daily smoking quantity, current smoking status, and past smoking status, totaling 12 phenotypes. The primary analysis method used was the random effect model of the inverse variance weighted (IVW) method, and the heterogeneity was detected by Cochrane's Q test and the horizontal pleiotropy was detected by MR-Egger intercept method. **Results:** The current smoking status was significantly positively correlated with the increasing risk of extrahepatic cholangiocarcinoma (OR=1.607, 95% CI: 1.113–2.322,  $P=0.011$ ). Higher coffee intake was causally linked to a higher risk of liver cancer and intrahepatic cholangiocarcinoma (OR=1.000, 95% CI: 0.999–1.000,  $P=0.012$ ). In the physical activity, more MVPA was associated with the lower risk of liver cancer and intrahepatic cholangiocarcinoma (OR=0.998, 95% CI: 0.996–0.999,  $P=0.002$ ). The Cochrane's Q test results showed that there was mild heterogeneity between MVPA and extrahepatic cholangiocarcinoma ( $Q=18.354, P=0.049$ ) as well as the percentage of protein intake and intrahepatic cholangiocarcinoma ( $Q=12.715, P=0.026$ ), and the MR-Egger intercept method results showed there was no horizontal pleiotropy. **Conclusion:** There is a causal relationship between current smoking status and extrahepatic cholangiocarcinoma, and there is a causal relationship between more MVPA and the lower risk of liver cancer and intrahepatic cholangiocarcinoma. Education on smoking and physical activity for the patients may offer potential benefits for the prevention of hepatobiliary malignancies.

**KEYWORDS** Lifestyle; Intrahepatic cholangiocarcinoma; Cholangiocarcinoma; Liver neoplasm; Mendelian randomization study

肝胆恶性肿瘤是一类进展迅猛且发病隐匿的恶性肿瘤, 根据其解剖位置, 可分为位于肝内的肝细胞癌和肝内胆管癌、位于肝外的肝外胆管癌及肝门部胆管癌<sup>[1]</sup>。目前, 肝胆恶性肿瘤的病因尚不明确, 对其发生和进展分子机制的研究较少<sup>[2]</sup>。因此, 了解其病因, 对其进行预防, 能够极大地减少患者痛苦。近年来, 许多肝胆恶性肿瘤的危险因素被逐渐发现, 包括病毒感染、肝吸虫感染、酒精性肝病、肥胖、糖尿病、黄曲霉素暴露、非酒精性脂肪性肝病和生活方式等<sup>[3-5]</sup>。随着流行病学和营养学的发展和进步, 生活方式对于疾病的影响逐渐被重视。研究<sup>[6-11]</sup>显示: 饮食构成、抽烟、饮酒和体育活动等生活方式均与肝胆恶性肿瘤的发生发展存在关联。但生活方式和肝胆恶性肿瘤发生的因果关系尚未完全阐明。生活方式作为一种日常活动和行为习惯, 需要较长时间才能够对人体和疾病的发生发展产生作用。常规的随机对照试验成本高昂, 也较难为其因果关系提供证据。随着DNA测序技术的进一步发展和成本的降低, 全基因组关联分析 (genome-wide association studies, GWAS) 可以探

索个体全基因组中遗传多态性与疾病的关系<sup>[12]</sup>。孟德尔随机化作为一种新型的流行病学研究方法, 以孟德尔第二遗传定律为原理, 以GWAS为数据基础, 逐渐被应用于探索暴露与表型因果关系方面的研究<sup>[13]</sup>。由于基因在受精卵形成时的随机性和基因多态性自由组合的时序性, 基于样本量较大的GWAS数据能够探索基因多态性所对应表型之间的因果关系和使用较低的成本提供较高等级的临床证据, 减少结果偏倚, 为临床工作提供潜在的信息。近年来, 国内外研究<sup>[14-18]</sup>使用孟德尔随机化探索糖尿病、肥胖、骨关节炎和脑卒中等多种疾病发生的因果关系。目前关于生活方式和肝胆恶性肿瘤相关关系的研究报道较少, 本研究通过两样本孟德尔随机化研究方法, 探索最常见的生活方式, 包括饮食构成、咖啡摄入、饮酒、日常身体活动和吸烟等与肝胆恶性肿瘤发生发展的因果关系, 为肝胆恶性肿瘤的预防和治疗提供参考。

## 1 资料与方法

**1.1 研究设计** 本研究遵循孟德尔随机化研究报告规范 (Strengthening the Reporting of

Observational Studies in Epidemiology-Mendelian Randomization, STROBE-MR)<sup>[19]</sup>。试验设计暴露因素为12种生活方式表型,包括饮食中碳水化合物摄入百分率、脂肪摄入百分率、蛋白质摄入百分率、咖啡摄入量、每周饮酒次数、闲暇时电子屏幕接触时间、闲暇时中高强度体育运动(moderate to vigorous intensity physical activity, MVPA)、工作时的久坐行为(久坐工作或非久坐工作)、首次吸烟年龄、每日吸烟数量、目前吸烟状态和既往吸烟状态。暴露的GWAS样本量为33 355~848 460例,均来源于欧洲血统的GWAS荟萃分析,以保证和结局的队列相互独立。具体各队列的研究设计可通过PubMed ID进行查询。本研究暴露的生活方式表型定义、数据来源PubMed ID和样本量见表1。根据肿瘤解剖位置,肝外胆管癌、肝癌和肝内胆管癌等肝胆恶性肿瘤被定为本研究的结局。肝外胆管癌的GWAS数据来源于一项汇总分析<sup>[20]</sup>,其样本量为635 710例,数据库ID为GCST90018803;肝癌和肝内胆管癌的GWAS数据来源于英国生物银行,样本量为372 366例,英国生物银行数据库ID为ieu-b-4915。

表1 样本信息

Tab. 1 Informations of samples

Exposed lifestyle	PubMed ID	Sample size
Percentage of carbohydrate intake	23372041	33 355
Percentage of fat intake	23372041	33 355
Percentage of protein intake	23372041	33 355
Coffee intake	31046077	39 924
Weekly alcohol consumption times	30643251	630 154
Leisure electronic screen exposure time	36071172	526 725
MVPA during leisure time	36071172	608 595
Sedentary behavior at work	36071172	372 609
Age at first smoking	30643251	216 837
Daily smoking quantity	30643251	216 590
Current smoking status	30643251	378 249
Past smoking status	30643251	848 460

**1.2 工具变量筛选** 孟德尔随机化研究包括3项假设:①相关性假设,作为工具变量的遗传变异与暴露有关;②独立性假设,遗传变异与目标结果无共同的混杂因素;③排斥性假设,除暴露外,遗传变异与结果之间无独立的因果途径。为了满足孟德

尔随机化三大假设,本研究设定严格的七步工具变量筛选步骤。首先,为满足相关性假设,工具变量与暴露显著强相关,根据GWAS汇总数据的原始研究设定了单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)与暴露相关性P值的阈值,以代表工具变量与暴露的相关性,阈值越小,相关性越强。为保证每一项暴露均可获得足够的工具变量,需选择不同的阈值,对于饮食(碳水化合物、脂肪和蛋白质摄入百分率),阈值设定为 $5 \times 10^{-5}$ <sup>[21]</sup>;对于咖啡摄入量和吸烟(首次吸烟年龄、每日吸烟数量、目前吸烟状态和既往吸烟状态)及每周饮酒次数,SNP与暴露相关性P值的阈值设定为 $5 \times 10^{-6}$ <sup>[22-23]</sup>;对于身体活动(闲暇时电子屏幕接触时间、闲暇时MVPA和工作时的久坐行为),SNP与暴露相关性P值的阈值设定为 $5 \times 10^{-8}$ <sup>[24]</sup>。第二步,为了避免连锁不平衡效应,基因座位点间物理距离 $<10\ 000$  kb范围内且相关系数( $r^2$ ) $\geq 0.001$ 的SNP被排除。在DNA序列中,距离较近的SNP在减数分裂及受精卵形成过程中合并组合,导致假随机效应的产生,将基因座位点间物理距离 $<10\ 000$  kb范围内且 $r^2 \geq 0.001$ 的SNP排除可降低该效应。体质量指数(body mass index, BMI)是胆管相关肿瘤的一个重要危险因素。为了满足孟德尔随机化的第二大假设,即工具变量与混杂因素无关,本研究设计第三步和第四步工具变量筛选步骤,删除了各个生活方式暴露中重复的SNP和与BMI相关的SNP。第五步进行生活方式暴露与结局的对应,排除在结局中不存在的SNP。为了满足假设三,第六步中排除了与结局相关的SNP。最后进行孟德尔随机化多态性个数总和与离群值(Mendelian Randomization Pleiotropy RESidual Sum and Outlier, MR-PRESSO)检验,剔除了SNP中的离群值。为了评价工具变量的预测强度,计算工具变量的F值和 $R^2$ 值,F值用于评估暴露相关的SNP的遗传效力, $R^2$ 用于评价该工具变量对于结局的解释程度<sup>[25]</sup>。

**1.3 统计学分析** 采用R 4.2.1软件及TwoSampleMR”包和“forestplot”包进行数据分析和可视化。采用逆方差加权法(inverse variance weighted, IVW)的随机效应模型作为主分析方法,可保证结果的假阳性率较低<sup>[26]</sup>。采用加权中位数法和MR-Egge回归法进行分析,并对IVW随机效应模型进行敏感性分析,采用

Cochrane's Q 检验法对 SNP 进行异质性检验, MR-PRESSO 法剔除带有异质性的 SNP, 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。为减少多次测量产生的数据偏倚, 采用 Bonferroni 校正法调整  $P$  值, 共进行了 24 次校正, 最终以  $P < 0.002$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 工具变量筛选** 283 个 SNPs 用于探索生活方式与肝外胆管癌的因果关系, 同时 234 个 SNPs 用于探索生活方式与肝癌和肝内胆管癌的因果关系。所有的工具变量  $F$  值均  $> 10$ , 表明纳入的 SNPs 具有较高较好的预测强度, 不受弱工具变量的影响。见表 2。

表 2 纳入的生活方式影响因素和结局

Tab. 2 Influence factors and outcomes of incorporated lifestyle

Exposed lifestyle	Extrahepatic cholangiocarcinoma			Liver cancer and intrahepatic cholangiocarcinoma		
	Number of SNPs	$F$	$R^2(\eta/\%)$	Number of SNPs	$F$	$R^2(\eta/\%)$
Percentage of carbohydrate intake	8	20.25—31.36	0.54	7	20.25—31.36	0.48
Percentage of fat intake	2	19.99—21.60	0.12	2	19.99—21.60	0.12
Percentage of protein intake	6	20.64—27.46	0.42	6	20.64—27.46	0.42
Coffee intake	3	28.73—1 815.28	0.04	3	28.73—1 815.28	0.04
Weekly alcohol consumption times	29	20.80—56.74	0.12	23	20.80—56.74	0.09
Leisure electronic screen exposure time	88	29.34—66.76	0.62	79	29.34—66.76	0.57
MVPA during leisure time	12	30.12—44.31	0.07	8	30.12—44.31	0.05
Sedentary behavior at work	7	29.87—39.69	0.06	6	29.87—38.32	0.05
Age at first smoking	22	21.04—31.29	0.24	14	21.22—31.29	0.15
Daily smoking quantity	30	20.82—503.45	0.60	26	21.04—503.45	0.55
Current smoking status	20	20.79—57.59	0.14	14	20.79—57.59	0.10
Past smoking status	56	20.75—53.17	0.17	46	20.75—53.17	0.14

**2.2 生活方式与肝外胆管癌的因果关系** 在肝外胆管癌与吸烟的关系中, 目前吸烟状态与易患肝外胆管癌呈显著因果关系 ( $OR=1.607$ , 95%CI: 1.113~2.322,  $P=0.011$ ), 首次吸烟年龄 ( $OR=1.239$ , 95%CI: 0.528~2.905,  $P=0.622$ )、每日吸烟数量 ( $OR=1.351$ , 95%CI: 0.703~2.599,  $P=0.367$ ) 和既往吸烟状态 ( $OR=1.383$ , 95%CI: 0.987~1.938,  $P=0.059$ ) 与患肝外胆管癌的风险无因果关系。饮食中碳水化合物摄入百分率 ( $OR=1.004$ , 95%CI: 0.917~1.099,  $P=0.931$ )、脂肪摄入百分率 ( $OR=0.927$ , 95%CI: 0.766~1.121,  $P=0.433$ )、蛋白质摄入百分率 ( $OR=1.044$ , 95%CI: 0.822~1.325,  $P=0.727$ )、咖啡摄入量 ( $OR=1.010$ , 95%CI: 0.980~1.040,  $P=0.522$ )、每周饮酒次数 ( $OR=0.984$ , 95%CI: 0.336~2.876,  $P=0.976$ )、闲暇时电子屏幕接触时间 ( $OR=0.970$ , 95%CI: 0.644~1.462,  $P=0.886$ )、MVPA ( $OR=0.306$ , 95%CI: 0.062~

1.503,  $P=0.145$ ) 和工作时的久坐行为 ( $OR=1.234$ , 95%CI: 0.535~2.845,  $P=0.622$ ) 与患肝外胆管癌的风险无因果关系。见图 1。

**2.3 生活方式与肝癌及肝内胆管癌因果关系** 饮食中碳水化合物摄入百分率 ( $OR=1.000$ , 95%CI: 0.999~1.001,  $P=0.480$ )、脂肪摄入百分率 ( $OR=1.000$ , 95%CI: 0.999~1.001,  $P=0.073$ )、蛋白质摄入百分率 ( $OR=1.000$ , 95%CI: 0.999~1.001,  $P=0.519$ ) 和每周饮酒次数 ( $OR=0.925$ , 95%CI: 0.998~1.002,  $P=0.925$ ) 均与患肝癌及肝内胆管癌的风险无因果关系。咖啡摄入量与患肝癌及肝内胆管癌的较高风险具有显著因果关系 ( $OR=1.000$ , 95%CI: 0.999~1.000,  $P=0.012$ )。在身体活动中, MVPA 与患肝癌及肝内胆管癌的较低风险具有显著因果关系 ( $OR=0.998$ , 95%CI: 0.996~0.999,  $P=0.002$ ), 闲暇时电子屏幕接触时间 ( $OR=1.000$ , 95%CI: 0.999~1.001,  $P=0.408$ ) 和工作时的久坐行为 ( $OR=1.000$ , 95%CI:

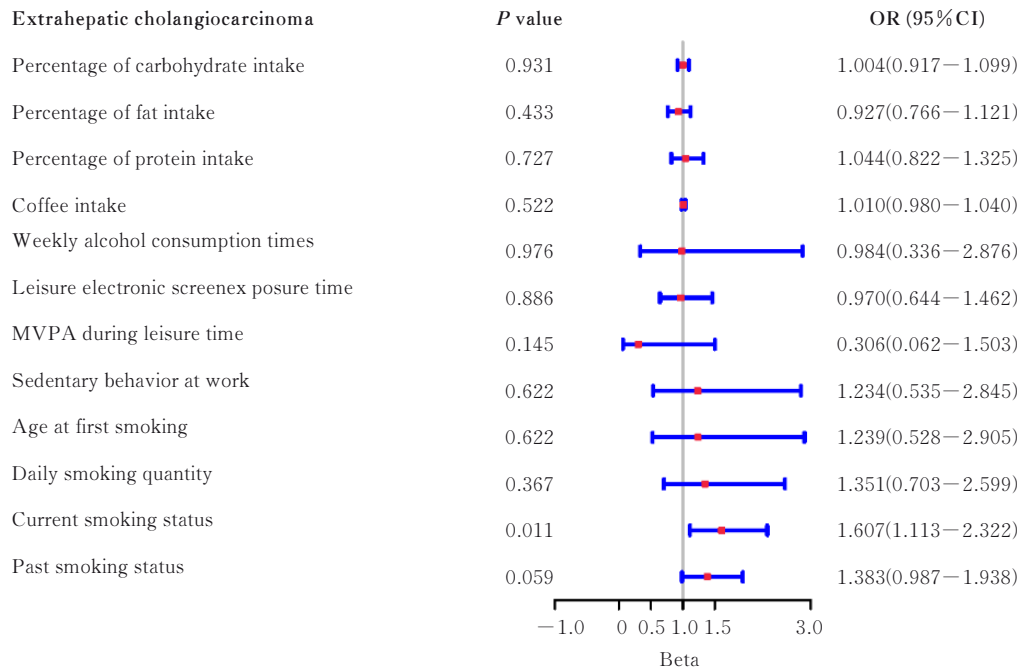


图1 生活方式与肝外胆管癌因果关系的孟德尔随机化分析

Fig. 1 Analysis on causal relationship between lifestyle and extrahepatic cholangiocarcinoma by Mendelian randomization

0.999~1.002,  $P=0.667$ ) 与患肝癌及肝内胆管癌的风险无因果关系。首次吸烟年龄 (OR=1.000, 95%CI: 0.998~1.002,  $P=0.871$ )、每日吸烟数量 (OR=1.001, 95%CI: 1.000~1.002,  $P=0.244$ )、既往吸烟状态 (OR=1.001, 95%CI:

1.000~1.002,  $P=0.152$ ) 和目前吸烟状态 (OR=1.000, 95%CI: 0.999~1.001,  $P=0.785$ ) 均与患肝癌及肝内胆管癌的风险无因果关系。见图2。

**2.4 敏感性分析** 敏感性分析结果显示: 本研究具有较好的稳定性。Cochrane's Q 检验中,

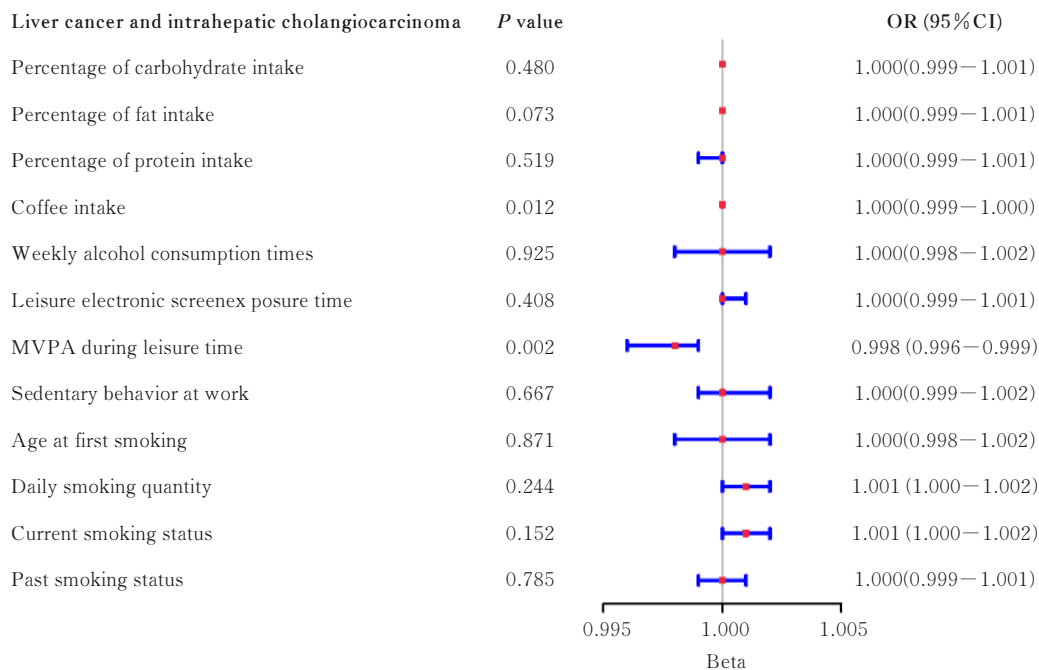


图2 生活方式与肝癌及肝内胆管癌因果关系的孟德尔随机化分析

Fig. 2 Analysis on causal relationship between lifestyle and liver cancer and intrahepatic cholangiocarcinoma by Mendelian randomization

MVPA 与肝外胆管癌 ( $Q=18.354$ ,  $P=0.049$ ) 和蛋白质摄入百分率与肝癌及肝内胆管癌 ( $Q=12.715$ ,  $P=0.026$ ) 具有轻度异质性。多

效性分析中, MR-Egger 截距法检验结果显示: 本研究无水平多效应, 所有  $P$  值均  $>0.05$ 。见表 3。

表 3 孟德尔随机化的敏感性分析结果

Tab. 3 Results of sensitivity analysis of Mendelian randomization

Exposed lifestyle	Extrahepatic cholangiocarcinoma				Liver cancer and intrahepatic cholangiocarcinoma			
	Q	Cochrane's Q-P	MR-Egger intercept	MR-Egger intercept-P	Q	Cochrane's Q-P	MR-Egger intercept	MR-Egger intercept-P
Percentage of carbohydrate intake	6.751	0.455	0.040	0.645	4.285	0.638	0.00 016	0.342
Percentage of fat intake	1.288	0.256	—	—	0.798	0.372	—	—
Percentage of protein in diet intake	3.212	0.667	-0.165	0.326	12.715	0.026	-0.00 052	0.159
Coffee intake	2.536	0.281	0.312	0.384	0.123	0.940	0.00 013	0.794
Weekly alcohol consumption time	29.995	0.363	-0.008	0.814	20.088	0.578	-0.0 0010	0.195
Leisure electronic screenex posure time	89.132	0.303	-0.022	0.362	64.966	0.834	-0.00 001	0.885
MVPA during leisure time	18.354	0.049	0.079	0.467	2.687	0.912	0.00 001	0.985
Sedentary behavior at work	3.288	0.772	-0.009	0.910	2.443	0.785	-0.00 005	0.705
Age at first smoking	15.972	0.771	0.005	0.894	17.265	0.187	0.00 006	0.508
Daily smoking quantity	34.499	0.221	0.005	0.819	25.719	0.423	-0.00 001	0.793
Current smoking status	11.899	0.890	0.009	0.790	13.646	0.399	-0.00 004	0.638
Past smoking status	42.277	0.896	-0.015	0.528	42.739	0.568	0.00 003	0.675

“—”: No data.

### 3 讨论

既往观察性研究<sup>[6-11]</sup>主要分析生活方式与肝胆恶性肿瘤发生发展的关联性, 对于二者之间的因果关系的研究较少。生活方式作为日常生活中常见的暴露因素, 分析其与肝胆恶性肿瘤发生发展的因果关系, 并为调控日常生活方式对疾病的发生发展提供较高等级的临床证据, 有利于减少肝胆恶性肿瘤的发生率, 减少患者和社会的负担。

本研究采用 IVW 随机效应模型分析生活方式与肝胆恶性肿瘤的因果关系。IVW 模型要求遗传变异对结果变量的影响预估准确, 确保不同遗传变异之间相互独立, 以避免相关性引入估计的偏差, 并且需要保证结果变量测量准确以获取准确的预估结果。

本研究结果显示: 仅较多的 MVPA 与较低患肝癌及肝内胆管癌的风险有因果关系。研究<sup>[27]</sup>显示: 每周较高频率的剧烈体育运动与肝细胞癌有显著相关关系, 与肝外细胞癌无相关性。因此, 适当进行较多的 MVPA 可能会降低患肝癌和肝内胆管癌的风险, 但这一效应可能在肝外胆管癌中并不明显。

既往队列研究<sup>[11]</sup>显示: 吸烟和饮酒与肝胆恶性肿瘤的发生有密切关联。荟萃分析研究<sup>[28]</sup>发现: 既往吸烟和目前吸烟状态均与肝外胆管癌发生的高风险有关, 目前吸烟状态与肝内胆管癌有关, 而饮酒仅与肝内胆管癌具有相关性。前瞻性研究<sup>[29]</sup>也得出了类似的结论, 酒精与肝内胆管癌无相关性, 但目前吸烟状态与肝内胆管癌发生的高风险具有相关性。本研究结果显示: 目前吸烟状态与易患肝外胆管癌呈显著因果关系。提示目前吸烟状态与肝外胆管癌发生的高风险具有相关性, 因此制定适当的健康指导措施和戒烟教育具有潜在降低肝外胆管癌发生的作用。

饮食构成与肝胆恶性肿瘤发生的关系中, 高碳水化合物饮食会促进全身代谢和肠道生态失调及慢性炎症, 进而影响肝胆恶性肿瘤的发生发展<sup>[30]</sup>。然而, 关于饮食构成与肝胆恶性肿瘤的相关性研究结果存在矛盾。研究<sup>[31]</sup>显示: 较高的红肉摄入和较低的谷物、茶叶及膳食纤维摄入与肝癌发生的风险升高有显著相关关系。但日本的一项队列研究<sup>[32]</sup>结果显示: 饮食构成与肝胆恶性肿瘤的相关性并不明显。本研究结果显示: 碳水化合物、脂肪和蛋白质 3 种主要营养素的摄入百分率与患肝胆恶

性肿瘤的风险均无因果关系。

咖啡摄入量与肝胆恶性肿瘤之间的关系同样存在争议。一项队列研究<sup>[33]</sup>结果显示:咖啡摄入量与肝外胆管癌无关联。但另一项多中心队列研究<sup>[34]</sup>发现:咖啡摄入量与肝内胆管癌无相关性,但高咖啡摄入量与降低肝细胞癌的患病风险具有显著相关性。咖啡中的绿原酸能够通过其抗氧化作用,减少癌细胞凋亡和DNA损伤,起到潜在的癌细胞保护作用<sup>[35]</sup>。本研究结果显示:咖啡摄入量与肝癌及肝内细胞癌具有因果关系,但咖啡摄入量较高可能会增加患癌风险,与既往研究<sup>[33-34]</sup>结果相矛盾。咖啡摄入量在肝胆恶性肿瘤中的具体作用仍需要进一步确认。

本研究具有一定的局限性:①研究基于的数据库均来源于欧洲,以欧洲血统样本为主,种族的单一性可能会引起结果偏倚;②本研究部分分析存在一定的异质性,但异质性均较为轻微,且在本研究中使用了随机效应模型进行统计分析,更加保守的模型能够减少异质性所引起的结果偏倚;③本研究采用的生活方式需要长时间的暴露才能对结果产生影响,但SNPs的测量常常是在某一时间点进行,因此可能会引起结果偏倚。

综上所述,基于大样本量的GWAS分析,孟德尔随机化研究方法仍能够提供较强的临床证据,规避随机对照试验的大成本,为患者的临床决策提供更加系统和科学的循证医学证据。目前吸烟状态与患肝外胆管癌的高风险具有显著因果关系,较多的MVPA与患肝癌及肝内胆管癌的较低风险具有显著因果关系。因此,对患者进行适当的戒烟劝导和体育运动教育对肝胆恶性肿瘤发病具有潜在的预防作用。

#### 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:

刘华青参与论文设计、撰写和修改,陈庆凯、陈永新、邱润昊、丁绪鹏、宋奉京、王岩和王葆林参与实验数据的获取和分析,曹宏参与实验设计。

#### [参考文献]

[1] ALJIFFRY M, ABDULELAH A, WALSH M, et al. Evidence-based approach to cholangiocarcinoma: a systematic review of the current literature[J]. *J Am Coll Surg*, 2009, 208(1): 134-147.

- [2] KOAY E J, ODISIO B C, JAVLE M, et al. Management of unresectable intrahepatic cholangiocarcinoma: how do we decide among the various liver-directed treatments?[J]. *Hepatobiliary Surg Nutr*, 2017, 6(2): 105-116.
- [3] BRINDLEY P J, BACHINI M, ILYAS S I, et al. Cholangiocarcinoma [J]. *Nat Rev Dis Primers*, 2021, 7: 65.
- [4] OSATAPHAN S, MAHANKASUWAN T, SAENGBONMEE C. Obesity and cholangiocarcinoma: a review of epidemiological and molecular associations[J]. *J Hepatobiliary Pancreat Sci*, 2021, 28(12): 1047-1059.
- [5] SONG Y H, CAI M T, LI Y H, et al. The focus clinical research in intrahepatic cholangiocarcinoma [J]. *Eur J Med Res*, 2022, 27(1): 116.
- [6] BAUMEISTER S E, SCHLESINGER S, ALEKSANDROVA K, et al. Association between physical activity and risk of hepatobiliary cancers: a multinational cohort study[J]. *J Hepatol*, 2019, 70(5): 885-892.
- [7] KUBO S, SHINKAWA H, ASAOKA Y, et al. Liver cancer study group of Japan clinical practice guidelines for intrahepatic cholangiocarcinoma [J]. *Liver Cancer*, 2022, 11(4): 290-314.
- [8] LAN Q Y, ZHANG Y J, LIAO G C, et al. The association between dietary vitamin A and carotenes and the risk of primary liver cancer: a case-control study [J]. *Nutrients*, 2016, 8(10): 624.
- [9] SCHERÜBL H. Alcohol use and gastrointestinal cancer risk[J]. *Visc Med*, 2020, 36(3): 175-181.
- [10] CHO I R, YI S W, CHOI J S, et al. Comparison of risk factors for cholangiocarcinoma and hepatocellular carcinoma: a prospective cohort study in Korean adults[J]. *Cancers*, 2022, 14(7): 1709.
- [11] HOU L, JIANG J M, LIU B Q, et al. Is exposure to tobacco associated with extrahepatic cholangiocarcinoma epidemics? A retrospective proportional mortality study in China[J]. *BMC Cancer*, 2019, 19(1): 348.
- [12] MADRID-VALERO J J, GREGORY A M. Behaviour genetics and sleep: a narrative review of the last decade of quantitative and molecular genetic research in humans[J]. *Sleep Med Rev*, 2023, 69: 101769.
- [13] MOHAMMADI-SHEMIRANI P, SOOD T, PARÉ G. From 'omics to multi-omics technologies: the discovery of novel causal mediators [J]. *Curr Atheroscler Rep*, 2023, 25(2): 55-65.
- [14] 丁佳豪, 章梦琦, 郝明霞, 等. 孟德尔随机化研究精神

- 分裂症与自杀或故意自残的因果关系[J]. 中华精神科杂志, 2023, 56(1): 32-39.
- [15] 刘宇兴, 苗雨阳, 赵明辉, 等. 双样本孟德尔随机化研究精神疾病和阻塞性睡眠呼吸暂停的关系[J]. 中华老年医学杂志, 2022, 41(10): 1146-1149.
- [16] 张晓宇, 刘天一, 朱文豪, 等. 孟德尔随机化研究及其在脑卒中病因探索中应用进展[J]. 中国老年学杂志, 2022, 42(23): 5885-5888.
- [17] 吴思佳, 李洪凯, 薛付忠, 等. 血压表型、脂质成分与2型糖尿病的跨种族孟德尔随机化研究[J]. 中华内分泌代谢杂志, 2023, 9(1): 19-25.
- [18] LIU H L, WU W, XIANG W, et al. Lifestyle factors, metabolic factors and socioeconomic status for pelvic organ prolapse: a Mendelian randomization study [J]. *Eur J Med Res*, 2023, 28(1): 183.
- [19] SKRIVANKOVA V W, RICHMOND R C, WOOLF B A R, et al. Strengthening the reporting of observational studies in epidemiology using Mendelian randomization: the STROBE-MR statement [J]. *JAMA*, 2021, 326(16): 1614-1621.
- [20] SAKAUE S, KANAI M, TANIGAWA Y, et al. A cross-population atlas of genetic associations for 220 human phenotypes[J]. *Nat Genet*, 2021, 53(10): 1415-1424.
- [21] CHU A Y, WORKALEMAHU T, PAYNTER N P, et al. Novel locus including FGF21 is associated with dietary macronutrient intake[J]. *Hum Mol Genet*, 2013, 22(9): 1895-1902.
- [22] ZHONG V W, KUANG A L, DANNING R D, et al. A genome-wide association study of bitter and sweet beverage consumption[J]. *Hum Mol Genet*, 2019, 28(14): 2449-2457.
- [23] LIU M Z, JIANG Y, WEDOW R, et al. Association studies of up to 1.2 million individuals yield new insights into the genetic etiology of tobacco and alcohol use [J]. *Nat Genet*, 2019, 51(2): 237-244.
- [24] WANG Z, EMMERICH A, PILLON N J, et al. Genome-wide association analyses of physical activity and sedentary behavior provide insights into underlying mechanisms and roles in disease prevention [J]. *Nat Genet*, 2022, 54(9): 1332-1344.
- [25] CAI J H, WEI Z X, CHEN M, et al. Socioeconomic status, individual behaviors and risk for mental disorders: a Mendelian randomization study [J]. *Eur Psychiatry*, 2022, 65(1): e28.
- [26] 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.
- [27] BEHRENS G, MATTHEWS C E, MOORE S C, et al. The association between frequency of vigorous physical activity and hepatobiliary cancers in the NIH-AARP Diet and Health Study [J]. *Eur J Epidemiol*, 2013, 28(1): 55-66.
- [28] MCGEE E E, JACKSON S S, PETRICK J L, et al. Smoking, alcohol, and biliary tract cancer risk: a pooling project of 26 prospective studies [J]. *J Natl Cancer Inst*, 2019, 111(12): 1263-1278.
- [29] 林志文, 刘红枝, 曾永毅, 等. 肝内胆管癌新辅助治疗的热点与进展[J]. 临床肝胆病杂志, 2023, 39(9): 2031-2038.
- [30] GUO W, GE X Y, LU J, et al. Diet and risk of non-alcoholic fatty liver disease, cirrhosis, and liver cancer: a large prospective cohort study in UK biobank [J]. *Nutrients*, 2022, 14(24): 5335.
- [31] MAKIUCHI T, SOBUE T, KITAMURA T, et al. The relationship between vegetable/fruit consumption and gallbladder/bile duct cancer: a population-based cohort study in Japan [J]. *Int J Cancer*, 2017, 140(5): 1009-1019.
- [32] MAKIUCHI T, SOBUE T, KITAMURA T, et al. Association between green tea/coffee consumption and biliary tract cancer: a population-based cohort study in Japan [J]. *Cancer Sci*, 2016, 107(1): 76-83.
- [33] PETRICK J L, FREEDMAN N D, GRAUBARD B I, et al. Coffee consumption and risk of hepatocellular carcinoma and intrahepatic cholangiocarcinoma by sex: the liver cancer pooling project [J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2015, 24(9): 1398-1406.
- [34] YIN X, HE X K, WU L Y, et al. Chlorogenic acid, the main antioxidant in coffee, reduces radiation-induced apoptosis and DNA damage via NF-E2-related factor 2 (Nrf2) activation in hepatocellular carcinoma [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2022, 2022: 4566949.
- [35] MAKIUCHI T, SOBUE T, KITAMURA T, et al. Smoking, alcohol consumption, and risks for biliary tract cancer and intrahepatic bile duct cancer [J]. *J Epidemiol*, 2019, 29(5): 180-186.