

DOI: 10.3969/j.issn.2096-6113.2024.04.008

引用格式:叶 侠.一碳代谢相关维生素 B 与食管癌因果关系:孟德尔随机化研究[J].巴楚医学,2024,7(4):67-73.

# 一碳代谢相关维生素 B 与食管癌因果关系: 孟德尔随机化研究

叶 侠

(南通市第一人民医院 放疗科, 江苏 南通 226000)

**摘要:** **目的:** 采用孟德尔随机化(MR)方法研究一碳代谢相关维生素 B 含量与食管癌(EC)发生之间的因果关联。**方法:** 分别以血清中一碳代谢相关维生素 B 含量和食管癌为暴露因素和结局变量,选择与维生素 B<sub>6</sub>、B<sub>9</sub> 和 B<sub>12</sub> 含量显著相关的单核苷酸多态性(SNPs)作为工具变量(IVs),进行两者因果关联的 MR 分析。采用 Cochran's Q 检验进行异质性分析,采用 MR-Egger 回归法和 MR-PRESSO 检验水平多效性,留一法检验结果的稳健性。**结果:** 维生素 B<sub>6</sub>、B<sub>9</sub> 和 B<sub>12</sub> 分别有 24 个、18 个、25 个 SNPs 纳入为 IVs。逆方差加权优势比(OR)值分别为 1.001、0.972、1.000 (均  $P > 0.017$ )。Cochran's Q 检验均显示不存在异质性(均  $P > 0.05$ )。MR-Egger 回归法和 MR-PRESSO 检验均未发现水平多效性(均  $P > 0.05$ )。留一法敏感性分析提示所得结果稳健。**结论:** 一碳代谢相关维生素 B 含量与食管癌发病之间不存在直接因果关系。

**关键词:** 食管癌; 一碳代谢; 维生素 B; 孟德尔随机化; 因果关系

中图分类号: R735.1

文献标志码: A

文章编号: 2096-6113(2024)04-0067-07

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



## Mendelian Randomization Study on the Causal Relationship between One-Carbon Metabolism Related Vitamin B and Esophageal Cancer

Ye Xia

(Department of Radiotherapy, Nantong First People's Hospital, Nantong 226000, China)

**Abstract Objective:** To explore the causal relationship between one-carbon metabolism related vitamin B levels and the occurrence of esophageal cancer (EC) using mendelian randomization (MR) analysis. **Methods:** One-carbon metabolism related vitamin B levels in the serum and EC were considered as the exposure and outcome variables, respectively. Single nucleotide polymorphisms (SNPs) significantly associated with the content of vitamin B<sub>6</sub>, B<sub>9</sub>, and B<sub>12</sub> were selected as instrumental variables (IVs) to perform MR analysis of the causal association. Heterogeneity analysis was conducted using Cochran's Q test. Horizontal pleiotropy was tested using MR-Egger regression and MR-PRESSO tests. The robustness of the results was examined using the leave-one-out method. **Results:** A total of 24, 18, and 25 SNPs were included as IVs for vitamin B<sub>6</sub>, B<sub>9</sub>, and B<sub>12</sub>, respectively. The inverse variance weighted odds ratio (OR) values were 1.001, 0.972, and 1.000 (all  $P > 0.017$ ). Cochran's Q test indicated no heterogeneity (all  $P > 0.05$ ). Neither MR-Egger regression nor MR-PRESSO tests found horizontal pleiotropy (all  $P > 0.05$ ). Leave-one-out sensitivity analysis suggested that the results were robust. **Conclusion:** There is no direct causal relationship between one-carbon metabolism related vitamin B levels and the occurrence of EC.

**Keywords** esophageal cancer (EC); one-carbon metabolism; vitamin B; Mendelian randomization (MR); causal relationship

食管癌(esophageal cancer, EC)是具有较高发病率及死亡率的消化道肿瘤,严重威胁人类的生命健康<sup>[1]</sup>。国际癌症研究机构调查显示<sup>[2]</sup>,2022年全球共计发现51.1万例新发食管癌患者,相关死亡病例44.5万,分别占有恶性肿瘤的2.6%和4.6%。食管癌目前的治疗方法包括手术切除、放射治疗、化疗及免疫治疗在内的综合治疗<sup>[3-4]</sup>,然而由于局部复发、远处转移等问题<sup>[5]</sup>,5年生存率仍旧不理想,约为12%~20%<sup>[6]</sup>。流行病学研究发现<sup>[7-9]</sup>,吸烟、饮酒、高温食品、红肉摄入和癌症家族史等均是食管癌的危险因素。除此以外,流行病学数据还指出,饮食因素与EC存在显著关系,B族维生素可能是一个影响因素<sup>[10]</sup>。其中,维生素B<sub>2</sub>、维生素B<sub>6</sub>、维生素B<sub>9</sub>和维生素B<sub>12</sub>能直接参与一碳代谢的多个步骤。例如,维生素B<sub>9</sub>(叶酸)和维生素B<sub>12</sub>是甲基供体的来源,参与同型半胱氨酸向蛋氨酸的转化,而维生素B<sub>6</sub>是这个转化过程中的辅酶。荟萃分析指出<sup>[11]</sup>,总的维生素B摄入与降低EC显著相关,但在亚组分析中维生素B<sub>6</sub>、维生素B<sub>9</sub>和维生素B<sub>12</sub>可能是保护因素,但维生素B<sub>12</sub>可能与EC发生成正相关。本文首次探讨了血清中一碳代谢相关维生素B含量与食管癌发病风险之间的关联。

随机对照试验一般被认为是判断因果关系的金标准。然而,由于伦理限制、内外因素干扰、统计功效不足以及需要大量的成本和时间,使得开展随机对照试验的可能性较低。随着基因组学技术的进步,人们发现许多疾病是由多个基因与生活方式以及环境因素相互作用的结果,全基因组关联研究(genome-wide association studies, GWAS)已经发现大量和人类疾病相关的遗传变异。孟德尔随机化(Mendelian randomization, MR)也因此受到更多关注。MR基于孟德尔遗传学原理,可以认为是“自然”的随机对照试验,利用自然界中本身存在的遗传变异作为工具变量(instrumental variables, IVs),研究暴露因素与结

局之间的因果联系,由于人类基因组一经确认很难改变,因此这种方法能很大程度上避免传统流行病学中的混杂偏倚和反向因果影响<sup>[12-13]</sup>,在流行病学领域得到广泛应用<sup>[14-15]</sup>。本研究通过先进的生物统计方法和多变量校正技术,利用两样本MR方法来评估一碳代谢相关维生素B与EC之间的潜在因果联系,为EC的预防和治疗提供新视角。

## 1 资料与方法

### 1.1 试验设计

本研究以一碳代谢相关维生素B(维生素B<sub>6</sub>、维生素B<sub>9</sub>和维生素B<sub>12</sub>)作为暴露因素,以维生素相关单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphisms, SNPs)作为IVs,以EC作为结局变量,评估一碳代谢相关维生素B和EC之间是否存在因果关系。其中IVs满足3个假设:①关联性假设,即选取的IVs与一碳代谢相关维生素B强相关;②独立性假设,即IVs与EC相关的混杂因素无关联;③排他性假设,即IVs只通过一碳代谢相关维生素B影响EC。最后利用Cochran's Q检验评估异质性,MR-Egger回归法、多效性残差和异常值检验(pleiotropy residual sum and outlier, MR-PRESSO)检验评估水平多效性,留一法敏感性分析来验证因果关联结果的稳健性。

### 1.2 数据来源

从全基因组关联研究数据GWAS(<https://gwas.mrcieu.ac.uk/>)中获得了一碳代谢相关维生素B相关的SNPs,将其作为IVs,从GWAS中筛选SNPs需同时满足如下条件<sup>[16]</sup>:① $P < 1 \times 10^{-5}$ ;②遗传距离为10 000 kb;③连锁不平衡参数 $R^2 < 0.001$ ;④与暴露之间强相关, $F > 10$ 。此外,为排除因种族差异导致的分析结果偏倚,分析的各数据均来源于欧洲人群,GWAS数据信息具体见表1。

表1 两样本MR研究GWAS数据信息

GWAS ID	作者	年份	变量	样本量	SNPs 数量	人种	性别
ieu-b-4960	Burrows	2021	食管癌	372 756	8 970 465	欧洲人	男性和女性
ukb-b-7864	Ben Elsworth	2018	维生素B <sub>6</sub>	64 979	9 851 867	欧洲人	男性和女性
ukb-b-3563	Ben Elsworth	2018	维生素B <sub>9</sub>	460 351	9 851 867	欧洲人	男性和女性
ukb-b-19524	Ben Elsworth	2018	维生素B <sub>12</sub>	64 979	9 851 867	欧洲人	男性和女性

### 1.3 MR的统计分析方法

逆方差加权法(inverse variance weighted, IVW)不考虑截距项的存在,认为SNPs没有多向性,是评估因果效应的主要方法<sup>[17]</sup>。同时,使用MR-Egger

回归、加权中位数法(weighted median estimator, WME)、简单模式(simple mode, SM)和加权模式(weighted mode, WM)作为补充分析方法<sup>[18-19]</sup>。使用IVW方法的前提是所有的IVs均为有效工具变

量,通过计算多个 IVs 效应大小的加权平均值,推断暴露与结局的因果关联。MR-Egger 回归考虑到截距项的存在,当 IVs 存在水平多效性时可以使用。WME 方法的前提是至少 50% 的 IVs 是有效工具变量,SM 及 WM 也具有一定的因果检测能力。考虑到该研究涉及 3 个暴露,采用更加严格的 Bonferroni 法进行多重检验  $P$  值,公式为  $P < 0.017(0.05/3)$ 。

1.4 异质性和敏感性检验

Cochran's Q 用于检测 IVs 之间是否存在异质性,当  $P > 0.05$  时说明不存在异质性<sup>[20]</sup>。MR Egger 法和 MR-PRESSO 可以检验 IVs 是否存在水平多效性<sup>[21]</sup>;留一法可以通过逐步剔除每个单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP),观察单个 SNP 对整体因果关系的影响,能识别出具有较大权重的变异,进而评估 MR 估计结果的稳定性和可靠性<sup>[22]</sup>。漏斗图可以初步识别异质性及水平多效性。

1.5 统计学分析

采用 R 4.3.3 进行数据分析(主要通过 Two Sample MR 包和 MR-PRESSO 包实现)和 R Studio 软件进行统计学分析,结果以优势比(odds ratio, OR)和 95% 置信区间(confidence interval, CI)表示。

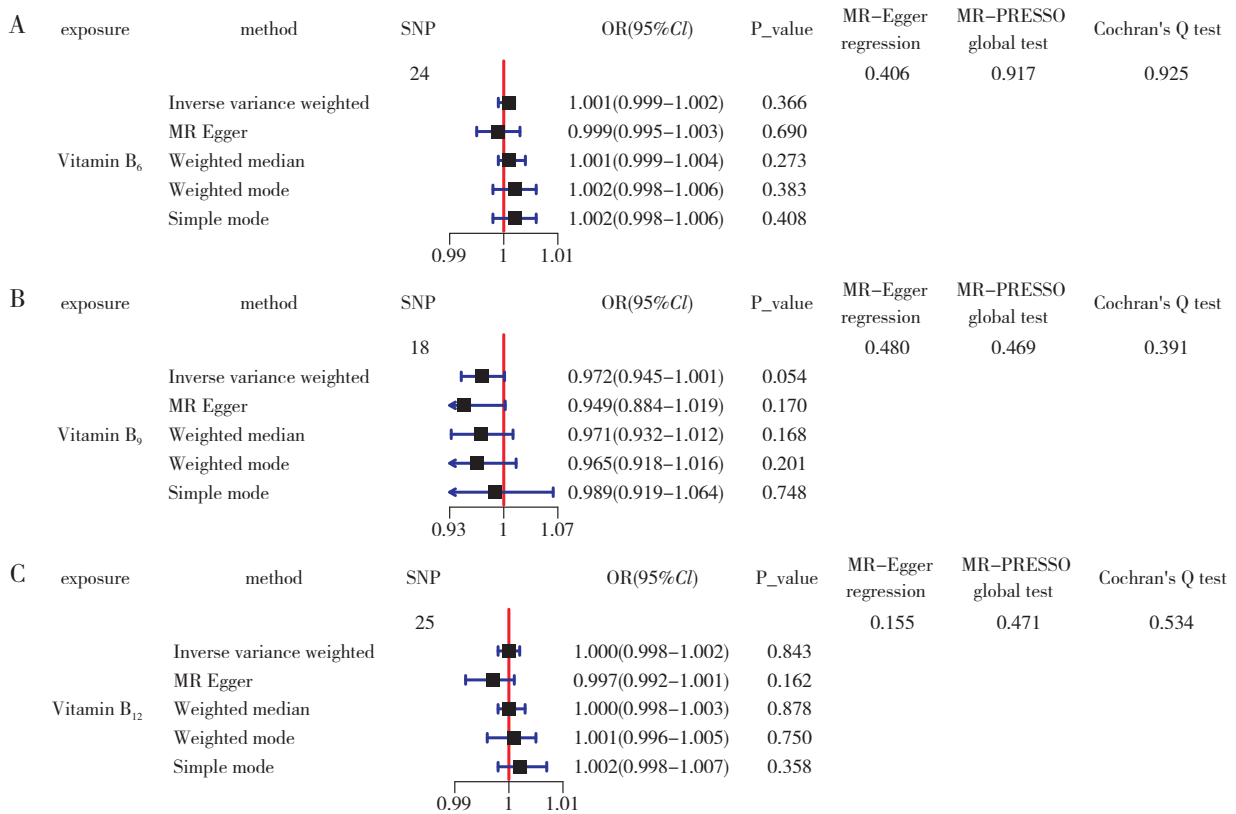
2 结果

2.1 工具变量的选择

根据筛选条件,共筛选出 24 个与维生素 B<sub>6</sub> 有关的 SNPs,18 个与维生素 B<sub>9</sub> 有关的 SNPs,25 个与维生素 B<sub>12</sub> 有关的 SNPs。F 统计量均大于 10,因此说明 SNPs 与暴露之间存在强相关,不存在弱工具变量偏倚。

2.2 维生素含量与食管癌发生的因果关系

MR 分析结果显示,维生素 B<sub>6</sub> 含量与食管癌之间没有明显的关系,IVW 分析结果显示维生素 B<sub>6</sub> 含量与食管癌发生之间  $OR = 1.001(95\%CI:0.999, 1.002;P=0.366)$ (图 1A);维生素 B<sub>9</sub> 含量与食管癌之间没有明显的关系,IVW 分析结果显示食管癌发生与维生素 B<sub>9</sub> 之间  $OR = 0.972(95\%CI:0.945, 1.001;P=0.054)$ (图 1B);维生素 B<sub>12</sub> 含量与食管癌之间也没有明显的关系,IVW 分析结果显示食管癌发生与维生素 B<sub>12</sub> 之间  $OR = 1.000(95\%CI:0.998, 1.002;P=0.843)$ (图 1C),其他 4 种方法也获得类似结果。5 种方法得到的因果关系一致,均无统计学意义,提示一碳代谢相关维生素 B 含量与食管癌之间无因果关系。



注:A:维生素 B<sub>6</sub> 与食管癌之间的关系; B:维生素 B<sub>9</sub> 与食管癌之间的关系; C:维生素 B<sub>12</sub> 与食管癌之间的关系。

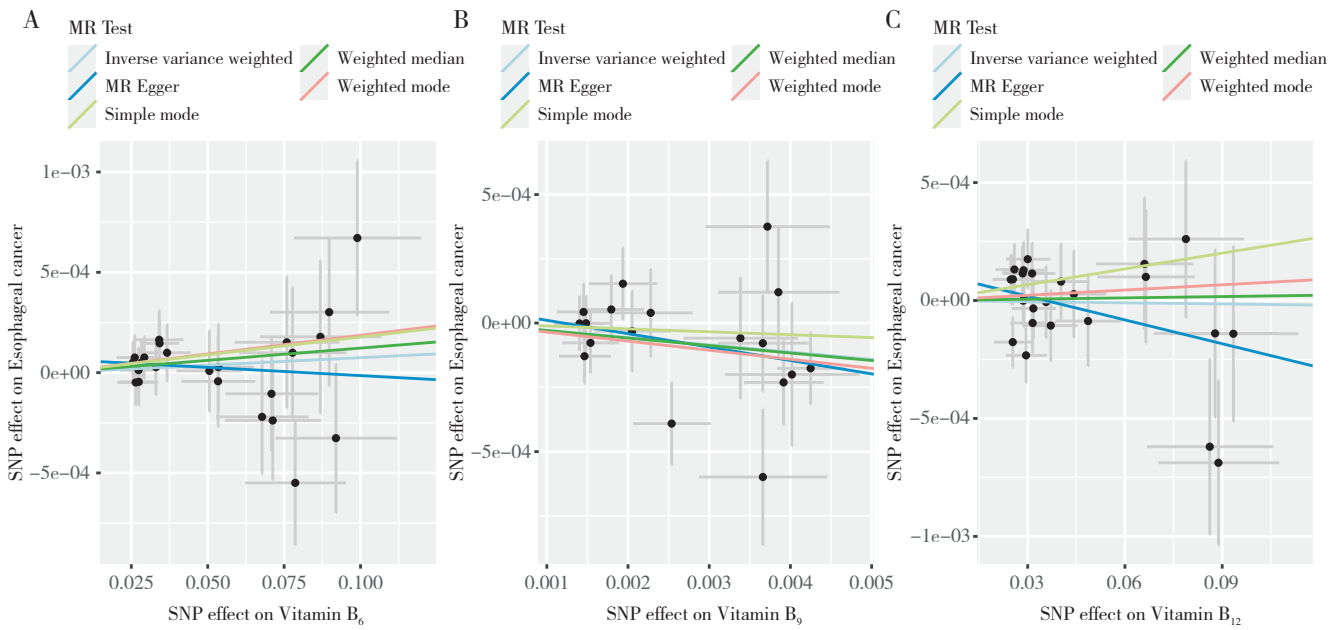
图 1 维生素含量和食管癌发生的 MR 分析结果森林图

### 2.3 异质性、水平多效性及敏感性分析

#### 2.3.1 异质性、水平多效性分析

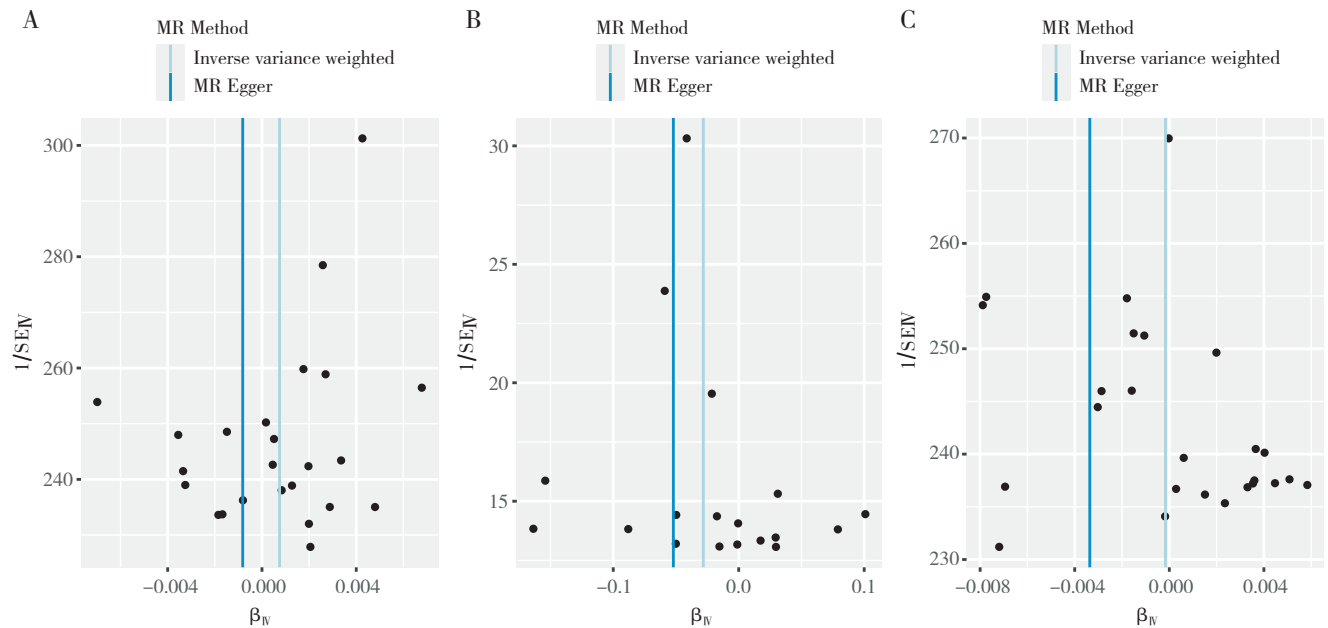
对维生素 B<sub>6</sub> 而言, Cochran's Q 检验表明, IVW 分析的异质性结果为  $P=0.925$ , 提示 24 个 SNPs 之间不存在异质性; MR-Egger 回归检验结果为  $P=0.406$ , MR PRESSO 法  $P=0.917$ , 说明结果不存在水平多效性。对维生素 B<sub>9</sub> 而言, Cochran's Q 检验表明, IVW 分析的异质性结果为  $P=0.391$ , 提示 18 个 SNPs 之间不存在异质性; MR-Egger 回归检验结果为  $P=0.480$ , MR PRESSO 法  $P=0.469$ , 说明结果

不存在水平多效性。对维生素 B<sub>12</sub> 而言, Cochran's Q 检验表明, IVW 分析的异质性结果为  $P=0.534$ , 提示 25 个 SNPs 之间不存在异质性; MR-Egger 回归检验结果为  $P=0.155$ , MR PRESSO 法  $P=0.471$ , 说明结果也不存在水平多效性(图 1)。另外, MR-Egger 截距项趋于 0, 同样说明结果不存在水平多效性(图 2)。由此说明分析结果存在潜在混在偏倚的风险很小。维生素 B<sub>6</sub>、维生素 B<sub>9</sub> 和维生素 B<sub>12</sub> 进行 MR 分析的漏斗图显示 SNPs 分布基本对称, 即没有明显的异质性(图 3)。



注: A: 维生素 B<sub>6</sub> 与食管癌; B: 维生素 B<sub>9</sub> 与食管癌; C: 维生素 B<sub>12</sub> 与食管癌。

图 2 MR 分析结果散点图



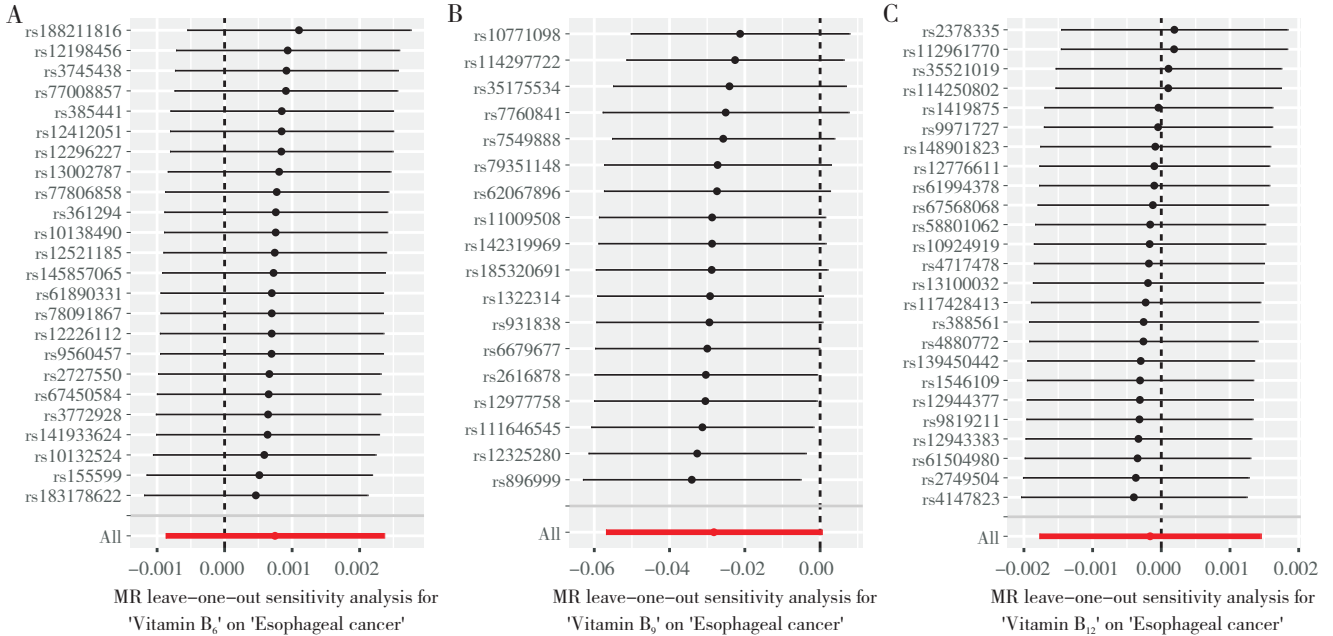
注: A: 维生素 B<sub>6</sub> 与食管癌; B: 维生素 B<sub>9</sub> 与食管癌; C: 维生素 B<sub>12</sub> 与食管癌。

图 3 MR 分析结果漏斗图

### 2.3.2 敏感性分析

留一法敏感性分析结果表明,对维生素 B<sub>6</sub> 而言,逐步排除 1 个 SNP 后,剩余 23 个 SNPs 的 OR 值与全部 SNPs 的 OR 值相近,没有出现明显偏差;对维生素 B<sub>9</sub> 而言,逐步排除 1 个 SNP 后,剩余 17 个

SNPs 的 OR 值与全部 SNPs 的 OR 值相近;对维生素 B<sub>12</sub> 而言,逐步排除 1 个 SNP 后,剩余 24 个 SNPs 的 OR 值与全部 SNPs 的 OR 值相近。以上均未发现 IVs 中存在对结果有影响的 SNPs,表明效应 OR 值稳健,MR 分析结果稳定(图 4)。



注:A:维生素 B<sub>6</sub>; B:维生素 B<sub>9</sub>; C: 维生素 B<sub>12</sub>。

图 4 留一法敏感性分析结果

## 3 讨论

孟德尔第二遗传定律指出,基因对在形成配子时随机分配,不受混杂因素影响,与随机对照试验具有相似之处,因此可以作为评估暴露和结局的可靠遗传工具<sup>[23]</sup>。明确一碳代谢相关维生素 B 含量和食管癌发生之间的关系对食管癌的病因及预防提供新的视角。本研究使用两样本 MR 分析讨论一碳代谢相关维生素 B 含量与食管癌之间的因果关系, F 值均大于 10,说明各 IVs 与一碳代谢相关维生素 B 含量强相关, Cochran's Q 检验、MR-Egger 等提示各 SNP 之间无异质性及水平多效性,留一法分析提示 MR 分析结果稳健。5 种不同的 MR 分析结果均表明一碳代谢相关维生素 B 含量与食管癌之间没有因果关系。

维生素 B<sub>6</sub>、维生素 B<sub>9</sub> 和维生素 B<sub>12</sub> 是参与单碳代谢途径的必需营养素<sup>[24]</sup>,在 DNA 稳定与基因转录<sup>[25]</sup>、蛋白质定位<sup>[26]</sup>和小分子降解<sup>[27]</sup>等几个生物过程中起关键作用。这些营养素在癌症预防方面起着举足轻重的作用。此外,观察性研究报告发现<sup>[28]</sup>,维生素水平与多种癌症类型相关联,涉及乳腺癌、结直肠癌以及肺癌等。其机制可能包括以下几个方面:①

维生素 B<sub>9</sub> 可以将脱氧尿嘧啶核苷酸转换成胸腺嘧啶脱氧核苷酸,胸腺嘧啶脱氧核苷酸是胸腺嘧啶合成及 DNA/RNA 和三磷酸核苷形成所必需的重要物质。叶酸缺乏可能导致尿嘧啶与 DNA 结合,并可能改变 DNA 修复机制,导致染色体断裂<sup>[29]</sup>;②维生素 B<sub>9</sub> 是甲基供体, B<sub>6</sub>、B<sub>12</sub> 是多种酶的辅助因子,在叶酸循环中, B 族维生素的不足可能导致 DNA 甲基化的下降,最终导致癌症的发生<sup>[30]</sup>。过去几十年来,多项流行病学研究了食管癌与维生素之间的潜在联系,但结论并不一致。例如,有研究表明提高维生素 B<sub>9</sub> 和维生素 B<sub>6</sub> 的摄入水平对预防包括食管癌在内的多种癌症具有积极作用<sup>[31]</sup>。

此外,还有研究发现<sup>[32]</sup>,维生素 B<sub>12</sub> 的摄入量与食管癌的发病率呈正相关,然而,在地理位置亚组分析中,并未在澳大利亚观察到这种相关性;在组织学类型亚组分析中,食管腺癌存在这种相关性,食管鳞癌则没有;在该研究中,维生素 B<sub>12</sub> 出人意料地表现为一种促癌因素。这可能因为维生素 B<sub>12</sub> 通常与炎症有关,它可以调节促炎细胞因子白细胞介素-6 和肿瘤坏死因子- $\alpha$ <sup>[33]</sup>。而炎症与癌症的风险增加有关,导致了从炎症(反流性食管炎)到皮化生(Barrett 食管)

再到腺癌的致癌过程的发生<sup>[34]</sup>；另一方面，维生素 B<sub>12</sub> 可以作为免疫反应的调节剂，在大范围内调节免疫细胞内 Ca<sup>2+</sup> 峰值，可能引起生理变化，间接促进食管癌的发生<sup>[35]</sup>。研究提示<sup>[36]</sup>，过量摄入维生素 B<sub>12</sub> 与在发育过程中起关键作用的某些基因的 DNA 甲基化模式变化相关联，这可能在致癌过程中导致基因表达的重新激活和/或调控解除。

本研究发现，一碳代谢相关维生素 B 含量与食管癌之间没有直接的因果关系，原因可能为：①一碳代谢相关维生素 B 含量的改变可能是导致食管癌的原因之一，但其他多种原因也可能导致食管癌，如遗传、环境和生活方式等；②食管癌可能有不同的生物学亚型和疾病阶段，维生素与某些亚型或阶段的关系可能比其他的更为密切；③可能存在一个非线性的剂量-反应关系，而我们的分析可能没有足够的统计能力来检测这种非线性关系。尽管我们的研究结果为阴性，但对公共卫生政策制定和临床实践有潜在影响，例如重新评估一碳代谢相关维生素 B 含量在食管癌中的预防作用进而调整食管癌的预防策略；通过考量个体的维生素水平，可以实现更为精确的医疗干预，同时这一做法有助于丰富现有的研究领域，并为将来的研究工作提供宝贵的参考依据。

本研究首次通过采用双样本 MR 分析方法探讨一碳代谢相关维生素 B 含量与食管癌发病风险之间的关联，得出了两者之间没有直接因果关系的研究结论，为食管癌的多因素病因提供视角。本研究的优点在于：①一碳代谢相关维生素 B 含量和食管癌 SNPs 的样本量足够大，在统计学上具备检测两者之间因果关系的能力；②采用 5 种分析方法研究两者的因果关系，结果一致；③异质性、水平多效性和留一法敏感性分析表明一碳代谢相关维生素 B 含量与食管癌发病风险之间没有直接因果关系这一研究结论的稳定性。

本研究存在以下的局限性：①研究使用的 GWAS 数据来源于欧洲人群，分析结果是否适用于其他种族人群需要进一步分析验证；②研究使用的 GWAS 数据对性别和年龄等特性没有详细的分组数据，限制分析结果的全面评估；③该研究只能对两者因果关系进行探讨，无法进一步探索生物学机制。综上所述，MR 研究结果提示，一碳代谢相关维生素 B（维生素 B<sub>6</sub>、维生素 B<sub>9</sub> 和维生素 B<sub>12</sub>）含量与食管癌不存在明显的因果关系。

#### 参考文献：

- [1] Liu C Q, Ma Y L, Qin Q, et al. Epidemiology of esophageal cancer in 2020 and projections to 2030 and 2040[J]. *Thorac Cancer*, 2023, 14(1): 3-11.
- [2] Bray F, Laversanne M, Sung H, et al. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. *CA Cancer J Clin*, 2024, 74(3): 229-263.
- [3] Meng X R, Wu T, Hong Y G, et al. Camrelizumab plus apatinib as second-line treatment for advanced oesophageal squamous cell carcinoma (CAP 02): a single-arm, open-label, phase 2 trial[J]. *Lancet Gastroenterol Hepatol*, 2022, 7(3): 245-253.
- [4] Zhang G C, Zhang C Q, Sun N, et al. Neoadjuvant chemoradiotherapy versus neoadjuvant chemotherapy for the treatment of esophageal squamous cell carcinoma: a propensity score-matched study from the National Cancer Center in China[J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2022, 148(4): 943-954.
- [5] Wang L, Han H Q, Wang Z H, et al. Targeting the microenvironment in esophageal cancer[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9: 684966.
- [6] Kong Y, Su M Y, Fang J, et al. Radiotherapy for patients with locally advanced esophageal squamous cell carcinoma receiving neoadjuvant immunotherapy combined with chemotherapy[J]. *Sci Rep*, 2024, 14(1): 16495.
- [7] Thrift A P. Global burden and epidemiology of Barrett oesophagus and oesophageal cancer[J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2021, 18(6): 432-443.
- [8] Simba H, Kuivaniemi H, Abnet C C, et al. Environmental and life-style risk factors for esophageal squamous cell carcinoma in Africa: a systematic review and meta-analysis[J]. *BMC Public Health*, 2023, 23(1): 1782.
- [9] Collatuzzo G, Etemadi A, Sotoudeh M, et al. Meat consumption and risk of esophageal and gastric cancer in the Golestan Cohort Study, Iran [J]. *Int J Cancer*, 2022, 151(7): 1005-1012.
- [10] Inoue-Choi M, Freedman N D, Etemadi A, et al. One-carbon metabolism biomarkers and upper gastrointestinal cancer in the Golestan Cohort Study[J]. *Int J Cancer*, 2024.
- [11] Ma J L, Zhao Y, Guo C Y, et al. Dietary vitamin B intake and the risk of esophageal cancer: a meta-analysis [J]. *Cancer Manag Res*, 2018, 10: 5395-5410.
- [12] Yuan S, Merino J, Larsson S C. Causal factors underlying diabetes risk informed by Mendelian randomisation analysis: evidence, opportunities and challenges[J]. *Diabetologia*, 2023, 66(5): 800-812.
- [13] Gagnon E, Daghlas I, Zagkos L, et al. Mendelian ran-

- domization applied to neurology: promises and challenges[J]. *Neurology*, 2024, 102(4): e209128.
- [14] Boehm F J, Zhou X. Statistical methods for Mendelian randomization in genome-wide association studies: a review[J]. *Comput Struct Biotechnol J*, 2022, 20: 2338-2351.
- [15] Zheng J Z, Huang J H, Yang Q, et al. Hospital-treated infectious diseases, infection burden and risk of lung cancer: an observational and Mendelian randomisation study[J]. *Chest*, 2024: S0012-S3692(24)04874-8.
- [16] Ference B A, Holmes M V, Smith G D. Using Mendelian randomization to improve the design of randomized trials[J]. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 2021, 11(7): a040980.
- [17] Patel A, Ye T, Xue H R, et al. MendelianRandomization v0. 9. 0: updates to an R package for performing Mendelian randomization analyses using summarized data[J]. *Wellcome Open Res*, 2023, 8: 449.
- [18] Carter A R, Sanderson E, Hammerton G, et al. Mendelian randomisation for mediation analysis: current methods and challenges for implementation[J]. *Eur J Epidemiol*, 2021, 36(5): 465-478.
- [19] Sanderson E, Glymour M M, Holmes M V, et al. Mendelian randomization[J]. *Nat Rev Meth Primers*, 2022, 2: 6.
- [20] Bowden J, Spiller W, Del Greco M F, et al. Improving the visualization, interpretation and analysis of two-sample summary data Mendelian randomization via the Radial plot and Radial regression[J]. *Int J Epidemiol*, 2018, 47(6): 2100.
- [21] Verbanck M, Chen C Y, Neale B, et al. Detection of widespread horizontal pleiotropy in causal relationships inferred from Mendelian randomization between complex traits and diseases[J]. *Nat Genet*, 2018, 50(5): 693-698.
- [22] Gronau Q F, Wagenmakers E J. Limitations of Bayesian leave-one-out cross-validation for model selection[J]. *Comput Brain Behav*, 2019, 2(1): 1-11.
- [23] Fu L W, Li Y N, Luo D M, et al. Plausible relationship between homocysteine and obesity risk via MTHFR gene: a meta-analysis of 38, 317 individuals implementing Mendelian randomization[J]. *Diabetes Metab Syndr Obes*, 2019, 12: 1201-1212.
- [24] Martín-Fernández-de-Labastida S, Alegria-Lertxundi I, de Pancorbo M M, et al. Association between nutrient intake related to the one-carbon metabolism and colorectal cancer risk: a case-control study in the Basque country[J]. *Eur J Nutr*, 2023, 62(8): 3181-3191.
- [25] Blake G E T, Zhao X H, Yung H W, et al. Defective folate metabolism causes germline epigenetic instability and distinguishes Hira as a phenotype inheritance biomarker[J]. *Nat Commun*, 2021, 12(1): 3714.
- [26] Mrowicka M, Mrowicki J, Dragan G, et al. The importance of thiamine (vitamin B1) in humans[J]. *Biosci Rep*, 2023, 43(10): BSR20230374.
- [27] Winter A D, Tjahjono E, Beltrán L J, et al. Dietary-derived vitamin B<sub>12</sub> protects *Caenorhabditis elegans* from thiol-reducing agents[J]. *BMC Biol*, 2022, 20(1): 228.
- [28] Brasky T M, Ray R M, Newton A M, et al. Supplemental B-vitamins and risk of upper gastrointestinal cancers in the women's health initiative[J]. *Nutr Cancer*, 2023, 75(4): 1103-1108.
- [29] Blount B C, Mack M M, Wehr C M, et al. Folate deficiency causes uracil misincorporation into human DNA and chromosome breakage: implications for cancer and neuronal damage[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1997, 94(7): 3290-3295.
- [30] Nawaz F Z, Kipreos E T. Emerging roles for folate receptor FOLR1 in signaling and cancer[J]. *Trends Endocrinol Metab*, 2022, 33(3): 159-174.
- [31] Peterson C T, Rodionov D A, Osterman A L, et al. B vitamins and their role in immune regulation and cancer[J]. *Nutrients*, 2020, 12(11): 3380.
- [32] Qiang Y Z, Li Q W, Xin Y J, et al. Intake of dietary one-carbon metabolism-related B vitamins and the risk of esophageal cancer: a dose-response meta-analysis[J]. *Nutrients*, 2018, 10(7): 835.
- [33] Al-Daghri N M, Rahman S, Sabico S, et al. Association of vitamin B<sub>12</sub> with pro-inflammatory cytokines and biochemical markers related to cardiometabolic risk in Saudi subjects[J]. *Nutrients*, 2016, 8(9): 460.
- [34] Pace F, Bianchi Porro G. Gastroesophageal reflux disease: a typical spectrum disease (a new conceptual framework is not needed) [J]. *Am J Gastroenterol*, 2004, 99(5): 946-949.
- [35] Sukocheva O A, Abramov A Y, Levitskaya J O, et al. Modulation of intracellular Ca<sup>2+</sup> concentration by vitamin B<sub>12</sub> in rat thymocytes[J]. *Blood Cells Mol Dis*, 2001, 27(5): 812-824.
- [36] Kok D E, Dhonukshe-Rutten R A, Lute C, et al. The effects of long-term daily folic acid and vitamin B<sub>12</sub> supplementation on genome-wide DNA methylation in elderly subjects[J]. *Clin Epigenetics*, 2015, 7: 121.

[收稿日期 2024-07-10]