

遗传预测的免疫细胞表型、血浆代谢组性状与肺结节易感性：双向孟德尔随机化及中介分析

汪正凤¹ 姚波^{1,3} 何为² (通讯作者)

1.兴仁市鲁础营回族乡卫生院 贵州 兴仁 562300

2.遵义医药高等专科学校附属医院康复科 贵州 遵义 563000

3.遵义医科大学附属医院全科医学科 贵州 遵义 563000

【摘要】目的：采用双向两样本孟德尔随机化(MR)及中介分析，探讨免疫细胞表型、血浆代谢组性状与肺结节的潜在因果关系及代谢性状的中介作用。方法：纳入731种免疫细胞表型、1400种血浆代谢组性状和肺结节全基因组关联研究数据，肺结节病例24817例、对照406872例。以逆方差加权法为主要分析方法，结合反向MR、两步MR中介分析和敏感性分析，并进行错误发现率校正。结果：校正后，11种免疫细胞表型和48种血浆代谢组性状与肺结节存在潜在因果关联。中介分析识别出8种代谢组性状介导特定免疫表型与肺结节的关联，中介比例为4.07%~14.40%；其中CD8 on CD8⁺→10-十七碳烯酸(17:1n7)→肺结节通路中介比例最高，为14.40%。反向MR未发现肺结节对相关免疫细胞表型存在因果效应。结论：免疫细胞表型和血浆代谢组性状可能共同参与肺结节易感性，部分代谢性状可能是免疫效应影响肺结节的中间环节。

【关键词】肺结节；免疫细胞表型；血浆代谢组性状；孟德尔随机化；中介分析

DOI:10.12417/2811-051X.26.12.050

引言

随着低剂量CT在肺癌筛查和健康体检中的普及，肺结节检出明显增加。多数结节为良性，但仍有部分属于早期肺癌或癌前病变，临床需要在及时识别高风险病灶与避免过度检查之间取得平衡^[1-2]。现行评估主要依赖结节大小、密度、边缘及生长速度等影像特征，难以完全反映病灶的生物学差异；将代谢指纹、蛋白标志物与影像信息联合，可提高良、恶性鉴别能力^[3]。

代谢组学能够反映能量代谢、脂质代谢、氧化应激和细胞信号的综合变化，已成为肺癌液体活检和早期标志物研究的重要方向^[4-5]。另一方面，磨玻璃结节及早期肺腺癌在抗原呈递、B细胞成熟、髓系细胞活化和CD8⁺T细胞状态方面已出现免疫重塑^[6]。观察性研究难以判断这些改变是病因还是疾病结果。MR利用遗传变异作为工具变量，可降低混杂和反向因果影响^[7]。基于上述问题，研究整合免疫细胞表型、血浆代谢组性状及肺结节遗传数据，并通过两步MR评价代谢性状的中介作用。

1 资料与方法

1.1 研究设计与数据来源

本研究采用双向两样本MR及两步MR中介分析。工具变量需满足相关性、独立性和排他性假设，即与暴露显著相关、不受混杂因素影响，并仅通过暴露影响结局^[7]。免疫细胞表型GWAS纳入3757名欧洲人，涵盖731种细胞计数、表面抗原

表达和形态学性状^[8]；血浆代谢组GWAS来自加拿大老龄化纵向研究的8299名参与者，包括1091种代谢物水平及309种代谢物比值^[9]；肺结节数据来自百万退伍军人计划，共431689名欧洲血统参与者，其中病例24817例、对照406872例^[10]。所有数据均为已获伦理审批的公开汇总数据，无需另行申请伦理审批。

1.2 工具变量筛选与MR分析

考虑到部分性状在全基因组显著性阈值下可用位点较少，以 $P < 1 \times 10^{-5}$ 筛选与暴露相关的单核苷酸多态性(SNP)，并按 $r^2 < 0.001$ 、窗口10000 kb进行连锁不平衡聚类；剔除方向不明确的回文SNP及 $F < 10$ 的弱工具变量，各暴露最终纳入3~753个SNP。仅含1个工具变量时采用Wald比值法，含多个工具变量时以逆方差加权法为主，并使用MR-Egger、加权中位数、简单众数和加权众数法补充。结果以OR及95%CI表示，FDR校正后 $P < 0.05$ 为有统计学意义。反向MR以肺结节为暴露、免疫细胞表型为结局。Cochran Q检验评价异质性，MR-Egger截距检验评价水平多效性，MR-PRESSO和留一法用于识别异常位点及单个SNP的影响。全部分析在R 4.4.0中完成。

1.3 中介分析

采用两步MR评价血浆代谢组性状在免疫细胞表型影响肺结节通路中的作用。先估计免疫表型对肺结节的总效应，再分

作者简介：汪正凤，女（1987—），汉族，贵州兴义，本科，主治医师，研究方向：全科医学、呼吸系统疾病。

通讯作者：何为，女，汉族，贵州遵义，硕士，主治医师，研究方向：康复医学、呼吸与消化系统疾病。

别估计免疫表型对代谢性状及代谢性状对肺结节的效应。中介效应=β免疫表型→代谢性状×β代谢性状→肺结节，直接效应=总效应-中介效应，中介比例=中介效应/总效应×100%^[11]。仅将直接效应与间接效应方向一致的通路作为主要中介结果。

2 结果

2.1 免疫细胞表型及血浆代谢组性状与肺结节

FDR 校正后，11 种免疫细胞表型与肺结节存在潜在因果关联，其中 7 种为危险性表型、4 种为保护性表型。危险性表型中，过渡性 B 细胞 IgD 表达 (OR=1.0523, 95%CI: 1.0209~1.0847)、CD14⁺CD16⁻单核细胞 CD14 表达 (OR=1.0514, 95%CI: 1.0115~1.0929) 和 CD8⁺浆细胞样树突状细胞绝对计数 (OR=1.0490, 95%CI: 1.0159~1.0831) 的效应较为突出。

保护性表型包括过渡性 B 细胞占比、CD8⁺绝对计数、CD8 on CD8⁺br 及 CD14⁺CD16⁺单核细胞 CD16 表达。

1400 种血浆代谢组性状中，48 种与肺结节存在潜在因果关联，包括 22 种危险性性状和 26 种保护性性状。危险性性状中，1-棕榈酰基-2-油酰基-GPC (16:0/18:1) (OR=1.1060, 95%CI: 1.0357~1.1811)、10-十七碳烯酸 (17:1n7) (OR=1.0962, 95%CI: 1.0177~1.1808) 和 X-16964 (OR=1.0886, 95%CI: 1.0197~1.1622) 关联较强；保护性性状以 X-13844 (OR=0.9079, 95%CI: 0.8511~0.9685)、腺苷 5'-单磷酸 (AMP)/谷氨酰胺比值 (OR=0.9242, 95%CI: 0.8596~0.9936)、咖啡因 (OR=0.9267, 95%CI: 0.8728~0.9839) 和丙氨酸/丙酮酸比值 (OR=0.9268, 95%CI: 0.8643~0.9937) 为代表 (图 1)。

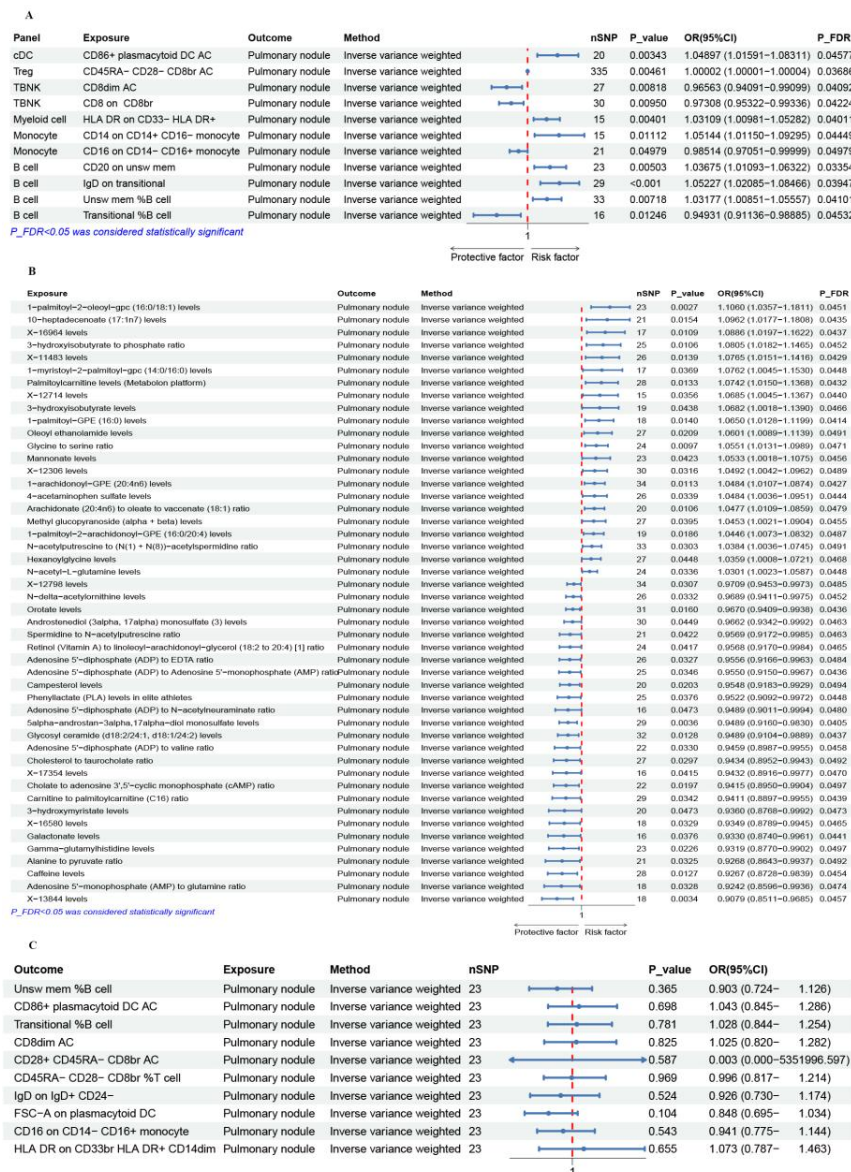


图 1 免疫细胞表型、血浆代谢组性状与肺结节的 MR 结果及反向 MR 分析

A: 免疫细胞表型; B: 血浆代谢组性状; C: 反向 MR。

2.2 中介分析与反向 MR

两步 MR 共识别 18 条潜在中介通路，涉及 9 种免疫细胞表型和 16 种代谢组性状；其中 8 种代谢组性状形成方向一致的部分中介通路（表 1、图 2A 和图 2B）。CD8 on CD8^{br}→10-十七碳烯酸（17:1n7）→肺结节的中介比例最高（14.40%），其次为 CD8^{dim} 绝对计数→X-16964（10.00%）、CD45RA-CD28-CD8^{br}绝对计数→胆酸/环磷酸腺苷（cAMP）比值（9.50%）、CD8 on CD8^{br}→油酰乙醇胺（8.93%）及过渡性 B 细胞 IgD 表达→丙氨酸/丙酮酸比值（7.70%）。其余通路中介比例为 4.07%~4.71%。纳入中介因素后直接效应仍存在，提示均为部分中介。

对具备可用工具变量的 10 种免疫细胞表型进行反向 MR 分析，未发现肺结节对其存在显著因果效应（均 $P>0.05$ ）。Cochran Q 检验、MR-Egger 截距及 MR-PRESSO 未提示明显异质性、水平多效性或异常位点，留一法结果亦显示主要关联不由单个 SNP 驱动。

表 1 血浆代谢组性状在免疫细胞表型与肺结节关联中的中介效应

免疫细胞表型	代谢组中介性状	总效应	中介效应	直接效应	中介比例
未转换记忆 B 细胞占比	X-12798	0.0313	0.0013	0.0300	4.07%
CD8 ^{dim} 绝对计数	X-16964	-0.0350	-0.0035	-0.0315	10.00%
CD45RA-CD28-CD8 ^{br} 绝对计数	胆酸/cAMP 比值	2.4838	2.36×10 ⁻⁶	2.4838	9.50%
未转换记忆 B 细胞 CD20 表达	己酰甘氨酸	0.0361	0.0017	0.0344	4.71%
未转换记忆 B 细胞 CD20 表达	甲基吡喃葡萄糖苷(α+β)	0.0361	0.0016	0.0345	4.45%
过渡性 B 细胞 IgD 表达	丙氨酸/丙酮酸比值	0.0510	0.0039	0.0471	7.70%
CD8 on CD8 ^{br}	10-十七碳烯酸(17:1n7)	-0.0273	-0.0039	-0.0234	14.40%
CD8 on CD8 ^{br}	油酰乙醇胺	-0.0273	-0.0024	-0.0249	8.93%

注：中介比例=中介效应/总效应×100%；表中直接效应与

中介效应方向一致，均为部分中介。

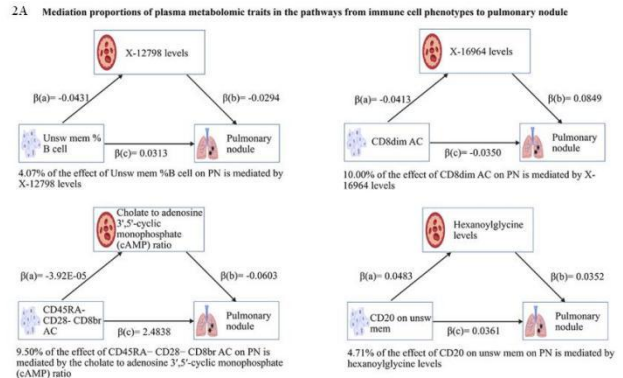


图 2 A 主要免疫细胞表型—血浆代谢组性状—肺结节中介通路（1~4）。

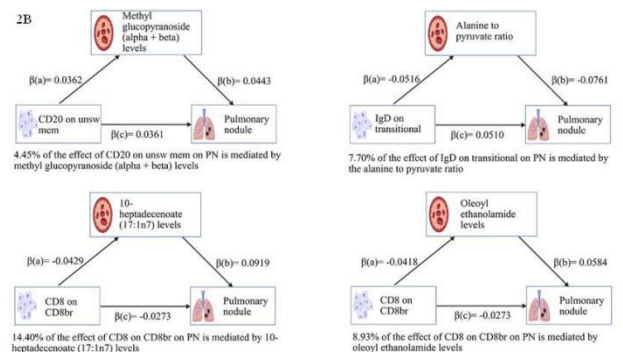


图 2 B 主要免疫细胞表型—血浆代谢组性状—肺结节中介通路（5~8）。

3 讨论

遗传学结果支持免疫状态与循环代谢环境共同参与肺结节易感性。B 细胞成熟、单核细胞抗原表达、浆细胞样树突状细胞及 CD8⁺T 细胞相关表型均呈现特异性关联信号，说明适应性免疫与固有免疫并非孤立作用。过渡性 B 细胞占比呈保护性关联，而 IgD 或 CD20 等成熟相关标志物呈危险性关联，这种差异或反映不同 B 细胞阶段在早期肺部病变中的功能差异。磨玻璃结节及早期肺腺癌的研究也发现，病变进展伴随抗原呈递、髓系细胞活化和 CD8⁺T 细胞状态的连续变化^[6]。

代谢组结果涉及脂质、氨基酸、胆汁酸、核苷酸及能量代谢，表明肺结节并非仅伴随单一代谢物异常。既往研究已证实良、恶性肺结节存在不同的循环代谢谱^[12]，国内研究亦显示血清代谢指纹与影像、蛋白标志物联合有助于结节鉴别^[3-5]。其中，1-棕榈酰基-2-油酰基-GPC、10-十七碳烯酸和油酰乙醇胺等信号，进一步指向膜脂重塑、脂肪酸处理和脂质信号参与早期病变环境的形成；丙氨酸/丙酮酸、AMP/谷氨酰胺及胆酸/cAMP 等比值则反映中间代谢和信号传导的整体变化。

中介分析将免疫变化与代谢改变置于同一通路中。最强通路为 CD8 on CD8^{br} 通过 10-十七碳烯酸影响肺结节，其余中

介因素涉及油酰乙醇胺、丙氨酸/丙酮酸比值和己酰甘氨酸等，这些结果把脂质处理、碳代谢和线粒体底物利用定位于免疫效应的下游环节。中介比例均低于15%，且直接效应仍然存在，说明这些代谢性状只是复杂免疫代谢网络的一部分；同时，二分类结局的中介比例应理解为通路相对贡献的近似估计，而非精确机制份额^[11]。

从临床转化角度看，当前肺结节风险判断仍以临床资料和影像学特征为主，单一影像指标难以充分解释病灶的生物学异质性。研究筛选出的免疫表型及代谢性状可为后续构建整合影像学、临床及分子特征的联合模型提供候选变量，但现阶段尚不能作为独立诊断指标。尤其是X-12798、X-13844和X-16964等未注释代谢特征，其生物学来源及组织特异性仍需通过靶向代谢组学、细胞实验和前瞻性队列进一步验证。

反向MR和多项敏感性分析未提示明显异质性、水平多效性或由单个SNP驱动的效应，支持主要结果的方向性和稳健性。不过，采用 $P < 1 \times 10^{-5}$ 的工具变量筛选阈值仍可能增加弱工

具变量或多效性风险，因此这些发现更适合作为遗传学层面的候选因果证据，不宜直接等同于已经完成实验验证的作用机制^[7]。

研究同时整合731种免疫表型、1400种代谢组性状及大样本肺结节GWAS，具有较好的系统性。局限性在于：数据主要来源于欧洲人群，外推至中国人群仍需验证；肺结节GWAS未区分结节大小、密度、生长方式及病理类型；部分代谢物尚未完成化学注释；较宽松的工具变量阈值可能增加偏倚风险，尽管F统计量和敏感性分析未见明显异常；MR和统计中介分析不能替代组织、细胞及前瞻性队列验证。后续可将候选免疫和代谢特征与影像指标结合，构建更具临床可解释性的肺结节风险模型。

4 结论

遗传学证据支持免疫细胞表型和血浆代谢组性状共同参与肺结节易感性。10-十七碳烯酸、X-16964、油酰乙醇胺等代谢性状可部分介导特定免疫表型对肺结节的影响，为肺结节免疫代谢机制及候选生物标志物研究提供遗传学依据。

参考文献：

- [1] 中华医学会呼吸病学分会肺癌学组,中国肺癌防治联盟专家组.肺结节诊治中国专家共识(2018年版)[J].中华结核和呼吸杂志,2018,41(10):763-771.
- [2] 中华医学会肿瘤学分会.中华医学会肺癌临床诊疗指南(2024版)[J].中华医学杂志,2024,104(34):3175-3213.
- [3] 许万星,王琳,郭巧梅,等.多模态肺结节诊断模型的临床验证及应用价值探索[J].上海交通大学学报(医学版),2024,44(8):1030-1036.
- [4] 邹诗施,李宁,张天宇,等.肿瘤代谢标志物在肺癌液体活检中的研究进展[J].中国肺癌杂志,2024,27(2):126-132.
- [5] 王道云,黄志诚,李博文,等.代谢组学在肺癌研究中的应用及其研究进展[J].中国肺癌杂志,2025,28(7):533-541.
- [6] Zhao C,Xiao R,Jin H,et al.The immune microenvironment of lung adenocarcinoma featured with ground-glass nodules[J].Thoracic Cancer,2024,15(19):1459-1470.
- [7] 于天琦,徐文涛,苏雅娜,等.孟德尔随机化研究基本原理、方法和局限性[J].中国循证医学杂志,2021,21(10):1227-1234.
- [8] Orrù V,Steri M,Sidore C,et al.Complex genetic signatures in immune cells underlie autoimmunity and inform therapy[J].Nat Genet,2020,52(10):1036-1045.
- [9] Chen Y,Lu T,Pettersson-Kymmer U,et al.Genomic atlas of the plasma metabolome prioritizes metabolites implicated in human diseases[J].Nat Genet,2023,55(1):44-53.
- [10] Verma A,Huffman JE,Rodriguez A,et al.Diversity and scale:genetic architecture of 2068 traits in the VA Million Veteran Program[J].Science,2024,385(6706):eadj1182.
- [11] Carter AR,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.
- [12] Yao Y,Wang X,Guan J,et al.Metabolomic differentiation of benign vs malignant pulmonary nodules with high specificity via high-resolution mass spectrometry analysis of patient sera[J].Nat Commun,2023,14(1):2339.