

通过孟德尔随机化和中介分析解剖牙科-肺癌轴

Wenran Zhang^{*1}, Huihuan Luo^{*2}, Linda Wei³, Nie Ping^{**1}, Yiqun Wu^{**4}, Dedong Yu^{**1}

Abstract—牙周炎和龋齿是影响全球数十亿人的常见口腔疾病。尽管观察性研究建议这些疾病与肺癌之间存在关联，但因果关系仍不确定。本研究使用双样本孟德尔随机化 (MR) 来探讨牙科特征 (牙周炎、龋齿) 与肺癌亚型之间的因果关系，并评估肺功能的中介作用。遗传工具来自最大可用的全基因组关联研究，其中包括 487,823 例龋齿和 506,594 例牙周炎的遗传数据，以及来自跨学科肺癌研究联盟 (Transdisciplinary Research of Cancer in Lung consortium) 的肺癌数据。主要分析方法是逆方差加权法；肺功能中介则使用增量法进行评估。结果显示，龋齿对整体肺癌及其亚型有显著的正向因果效应。具体而言，龋齿发病率每增加一个标准差，鳞状细胞肺癌风险增加 188.0 % (OR = 2.880, 95 % CI = 1.236–6.713, $p = 0.014$)，这种效应部分通过用力肺活量 (FVC) 和一秒钟内用力呼气量 (FEV₁) 的下降来介导，分别占总效应的 5.124 % 和 5.890 %。未发现牙周炎的因果效应。这些发现突显了龋齿在肺癌风险中的因果角色，并支持将牙科护理和肺功能监测纳入癌症预防策略。项目将在接受后开源。

Index Terms—Dental caries, Periodontitis, Lung cancer, Mendelian randomization, Causal relationship

I. 介绍

肺癌是全球诊断为癌症的第二大癌症类型，并且是癌症死亡的主要原因之一 [1]。长期以来，肺癌被错误地视为“吸烟者的疾病”。然而，随着吸烟率的下降，肺癌病例中从不吸烟者的比例正在增加，约占% 10 至% 25 [2]。随着这种变化，研究人员致力于寻找其他风险因素。

口腔疾病被认为与肺癌风险增加相关。由于呼吸道与口腔相连，口腔微生物群成为呼吸道病原体的主要来源之一 [3]–[5]。在牙菌斑、牙周袋和唾液中已检测到多种呼吸道病原体，这为这些病原体在下呼吸道的后续侵袭和感染提供了基础 [6]。同时，流行病学研究表明，无论吸烟情况如何，唾液微生物群的微生物多样性和丰富度较低的人患肺癌的风险更高 [4], [7], [8]。牙周炎和龋齿是两种最常见的微生物引起的口腔疾病。可以假设，在不受吸烟偏见影响的情况下，两个牙科特征与肺癌之间可能存在某种通路。虽然一些临床研究已经报告了这种联系，但由于特定的限制，其结果的可靠性受到质疑 [9]–[12]。一方面，临床研究必须遵循严格的伦理指导原则，这可能限制某些类型的研究设计或干预措施。另一方面，参与者的配合、时间和资源的限制可能限制样本量、研究持续时间或范围，可能影响研究的有效性和可靠性。因此，有必要采用无偏见且

互补的方法进行进一步研究，以探讨口腔病变与肺癌潜在因果关系。

孟德尔随机化 (MR) 是一种新兴的方法，通过利用单核苷酸多态性 (SNPs) 作为工具变量 (IVs) 来评估暴露对某种结果 (通常是疾病) 的因果效应 [13]。与观察性流行病学研究相比，MR 较少受到反向因果关系和混杂因素的偏倚，因此被广泛用于病因分析。如其名，两样本 MR 从不同的数据集中提取遗传变异，从而得出更为稳健的结论 [14]。然而，目前尚无 MR 研究评估口腔特征与肺癌之间的关系。

口腔微生物群失调通过多种机制促进肺肿瘤发生，包括增加的遗传毒性和毒力效应、代谢紊乱、免疫反应和促炎作用 [15]。可能由于类似的途径 [16]–[18]，观察性研究提出肺功能受损也可能预示着肺癌风险的增加 [16]–[21]。另一项长期队列研究显示，患有更严重牙周炎的人肺功能较差 [22]。鉴于肺功能障碍可能与口腔和肺部病变都有关，我们预期确认这些发现并探索肺功能在口腔到肺癌途径中的潜在中介作用。随着我们对牙齿特征和肺癌之间遗传和分子路径的理解加深，这可能有助于未来肿瘤预防和筛查的发展。因此，在这项研究中，我们旨在调查牙周病和龋齿对肺癌风险的影响，并量化肺功能作为中介的角色。

II. 方法

在这项两步摘要为基础的 MR 研究中，我们探讨了牙科疾病对不同类型肺癌的影响。此外，还分析了牙科状况与肺癌之间呼吸功能参数 (包括用力肺活量 (FVC)，1 秒用力呼气量 (FEV₁) 和 FEV₁/FVC) 的潜在介导作用。Figure 1 展示了我们研究的分析过程。

A. 数据来源和工具变量选择

1) 暴露因素：牙周炎和龋齿：牙周炎和龋齿的 GWAS 汇总统计数据由 Shungin 等人获得，他们综合了来自牙科结局中的基因-生活方式交互 (GLIDE) 联盟和英国生物银行的欧洲血统样本。目前，这是最大和最新的数据集。牙周炎和龋齿的遗传决定因素分别从 GLIDE 中识别出来 ($n = 44,563$ 和 $n = 26,792$)。GWAS 已根据年龄、age² 以及其他研究特定的协变量进行了调整。为了确保遗传变异与暴露强相关，我们把龋齿的 P 值阈值设置为 5×10^{-8} ，并将其扩大到牙周炎的 5×10^{-6} 以获得更多的 SNPs [23]–[25]。具有有限连锁不平衡 (同时满足 $r^2 < 0.001$ 和聚集窗口 $> 10,000$ kb) 者被用作 IVs。为了进一步验证遗传相关性，我们计算了 F 统计量，其应大于 10 [26]。

来自国际肺癌联盟的跨学科肺癌研究 (TRICL-ILCCO) 获取了肺癌及其亚型 (包括肺腺癌、小细胞肺癌和鳞状细胞肺癌) 的

2) 结果：肺癌：GWAS 汇总统计数据；其中包括 29,266 个欧洲血统的病例和 56,450 个对照个体 [27]。GWAS 已根据性别、年龄和主成分进行调整。GWAS 的基本信息显示在 Table I。

*:Wenran Zhang and Huihuan Luo are co-first authors

**Corresponding Authors

¹Department of Second Dental Center, Shanghai Ninth People's Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai, China. Emails: zhangwenran@sjtu.edu.cn, nieping@alumni.sjtu.edu.cn, yiqunwu@hotmail.com, yudedong@sjtu.edu.cn

²School of Public Health, Key Lab of Public Health Safety of the Ministry of Education and NHC Key Lab of Health Technology Assessment, Fudan University, Shanghai, China. Email: hh-luo21@m.fudan.edu.cn

³Multimedia Laboratory, The Chinese University of Hong Kong, Hong Kong SAR, China. Email: 1155230127@link.cuhk.edu.hk

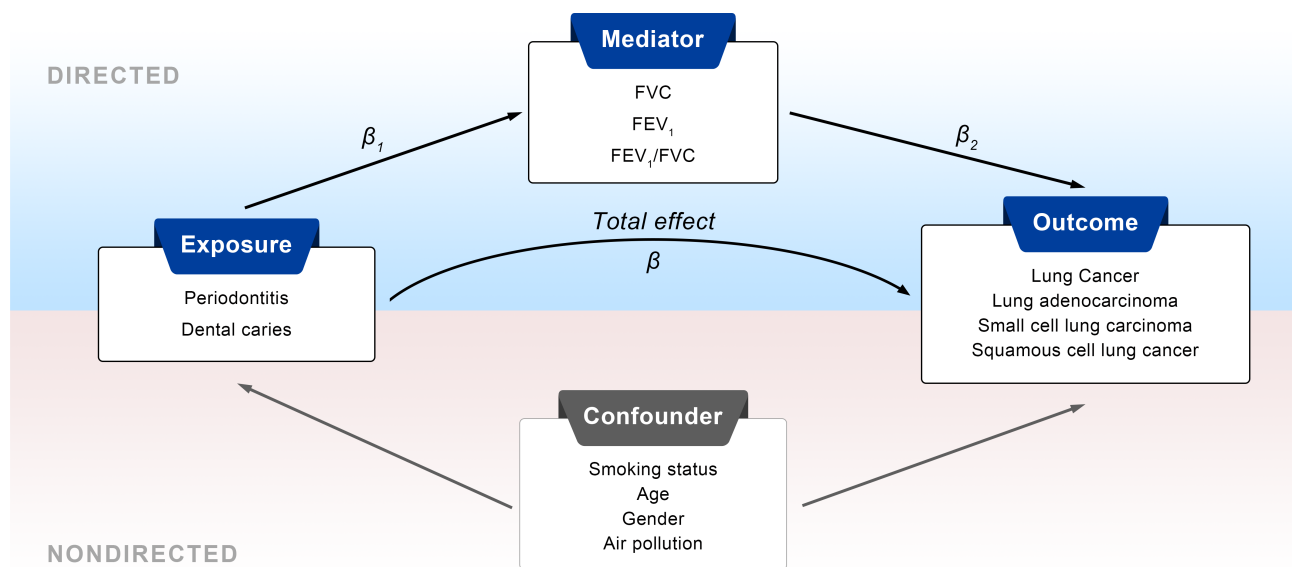


Fig. 1. 关于牙齿特征与肺癌关联的有向无环图 (DAG)。蓝色条代表暴露对结果的直接影响，肺功能损伤可能起到中介作用。红色条显示与牙齿特征和肺癌相关的主要混杂因素。通过调整或控制这些混杂因素可以减少偏倚。 β_1 ：口腔特征对中介变量的因果效应； β_2 ：中介变量对肺癌及其亚型的因果效应； β ：口腔特征对肺癌及其亚型的总效应。

TABLE I
我们研究中包含的 GWASs 摘要。

Role	Traits	GWAS ID	Consortium	Sample sizes
Exposure	Periodontitis	Not Applicable	GLIDE	44563
	Dental Caries	Not Applicable	GLIDE	26792
Mediator	FVC	ebi-a-GCST007429	SpiroMeta	400102
	FEV ₁	ebi-a-GCST007432	SpiroMeta	400102
	FEV ₁ /FVC	ebi-a-GCST007431	SpiroMeta	400102
Outcome	Lung Cancer	ieu-a-987	TRICL	85716
	Lung adenocarcinoma	ieu-a-984	TRICL	65864
	Small cell lung carcinoma	ieu-a-988	TRICL	23371
	Squamous cell lung cancer	ieu-a-989	TRICL	62467

3) 中介变量：FVC, FEV₁ 和 FEV₁/FVC：Shrine 等人整合了肺功能的 GWAS 汇总统计数据，他们分析了 400,102 名欧洲血统的个体（其中 321,407 来自 UKB, 79,055 来自 SpiroMeta）。该 GWAS 调整了年龄、age²、性别、身高和吸烟状态。在全基因组水平上显著与肺功能受损相关的 SNPs (P 值 < 5 × 10⁻⁸) 且没有高连锁不平衡的 (r² < 0.001 且聚合窗口 > 10,000 kb) 被选中。同样地，我们计算了 F 统计量以验证关系的强度。

B. 统计分析

1) 主要 MR 分析：我们首先比较了牙周炎和龋齿的遗传变异，以确认是否存在任何共同的基因变体。反向方差加权 (IVW) 方法被用作评估估计值的主要分析方法 [28]。为了进一步消除干扰，我们在 PhenoScanner 数据库中搜索了上述工具的潜在混杂因素，包括肥胖、吸烟状态、饮酒等，并将其删除 [29]。然后，在删除后进行 MR 分析，作为主模型。然而，工具变异可以导致横向多效性，这意味着除了我们暴露的因素外，其他因素通过因果途径

影响结果，从而违反 MR 假设。因此，MR-Egger 回归和加权中位数方法的结果可以起到辅助作用，并且已知对横向多效性相对稳健 [30]。加权中位数方法可以在高达选定遗传工具的 50 % 无效时提供一致的因果估计 [31]，而 MR-Egger 方法可以检测和调整方向性多效性 [32]。最后，我们使用非中心参数 (NCP) 计算结果的统计功率 [33]。

2) 敏感性分析：为了准确评估多效性，我们进行了 MR-Egger 回归和 MR 多效性残差和异常值 (MR-PRESSO) 测试，该测试可以通过全局和 SNP 特定的观察残差平方和识别额外的异常值，确定去除异常值后是否存在显著差异 [34]。随后进行了 Cochran's Q 检验，以评估口腔特征与肺癌发生率之间因果效应估计的异质性。

鉴于先前的研究表明身高可能会影响对肺功能的 MR 分析 [35]，我们还在 FVC、FEV₁ 和 FEV₁/FVC 被用作暴露变量时，使用多变量 MR (MVMR) 从不同的 GWAS 中调整了身高参数 [36]。与立即移除与身高相关的工具的传统方法相比，MVMR 不会削弱统计效力 [37]。为了确定肺功能是否在暴露和结果之间的统计学显著关联中起中介作用，我们通过应用两步 MR 方法进行中介 MR 分析。在第一步中，我们计算了暴露对每个中介变量的因果效应 (β_1)；在第二步中，我们估计了中介变量对肺癌及其主要亚型的因果效应 (β_2)。对于在两步中均表现出显著性 (P 值 < 0.05) 的组合， $\beta_1 * \beta_2$ 代表中介对机制的间接效应。 β 代表暴露对结果的总效应。因此，我们使用 delta 方法计算肺功能的中介比例 (中介比例 = $\frac{\beta_1 * \beta_2}{\beta}$) [38]。为了确保中介分析的稳健性，95% 的置信区间 (CI) 通过 bootstrap 方法估算。置信区间为零表示在显著性水平为 5% 时中介效应不显著 [39]。

我们在 R (版本 4.3.1) 中使用了以下软件包进行分析: TwoSampleMR (版本 0.5.7) 进行 MR 分析; MRPRESSO (版本 1.0)、MRInstruments (版本 0.3.2) 和 MRPracticals (版本 0.0.1) 进行敏感性分析并确认异常值; RMediation (版本 1.2.2) 用于计算中介效应。

III. 结果

排除不符合上述标准的 SNP 后, 选取了 22 个牙周病 SNP 和 20 个龋齿 SNP 作为 IVs 来评估暴露的效果。两组之间没有遗传重叠。对于肺功能, 选择了 241 个 (FVC)、271 个 (FEV₁) 和 305 个 (FEV₁/FVC) SNP 作为 IVs 来评估中介变量的效果。这些 IVs 的 F 统计量均大于 10, 表明没有弱工具偏差的证据。对于牙周病, 在协调暴露与结果后, 不兼容的等位基因 (rs1807019) 被删除了。最初的 MR 结果表明没有显著性 (IVW: OR = 1.172, 95 % CI = 0.833-1.650, p = 0.362)。随后, 我们搜索了 PhenoScanner 数据库, 结果表明 rs62177307 与身高特征显著相关, 因此被移除。最终确定了 20 个 IVs 作为牙周病的工具变量。使用单变量 MR, 我们发现牙周病对肺癌发病率没有显著影响 (IVW: OR = 1.137, 95 % CI = 0.797-1.623, p = 0.479)。通过 MR-PRESSO 异常值测试, 我们识别出一个异常值 (rs12568187), MR-PRESSO 失真测试中的 P 值为 0.034, 表明该异常值对结果有明显影响。然而, 即使在消除后, 结果仍无显著性 (IVW: OR = 0.546, 95 % CI = 0.259-1.151, p = 0.130)。

同样地, 对于龋齿, 回文 SNP (rs3865314) 已被删除。在 PhenoScanner 数据库中未发现混杂的 SNP。这些混杂因素被删除, 随后选择了 15 个 SNP 作为最终的工具变量。我们发现龋齿与更高的肺癌风险呈正相关 (IVW: OR = 2.525, 95 % CI = 1.454-4.384; p = 0.001)。尽管 Cochran 的 Q 检验结果确认了异质性的存在 (IVW: Q=30.812, p=0.006), 但 MR-Egger 截距并未表明存在多效应的证据 (截距 = -0.003, p=0.915) (显示在 ?? 中)。我们使用了 MR-PRESSO 离群值检验并识别出一个离群值 (rs80270335); 然而, MR-PRESSO 扭曲检验的 P 值 (p = 0.555) 显示, 排除该离群值对结果没有显著影响。

此外, 口腔特征与肺癌亚型之间的遗传相关性如 ?? 所示。龋齿与腺癌 (IVW: OR = 2.456, 95 % CI = 1.299-4.642, p = 0.006)、小细胞肺癌 (IVW: OR = 4.175, 95 % CI = 1.316-13.247, p = 0.015) 和鳞状细胞肺癌 (IVW: OR = 2.880, 95 % CI = 1.236-6.713, p = 0.014), 以及整体肺癌呈正相关。而所有这些都证明具有足够的统计效力 (约为 1.00)。然而, 牙周炎对任何肺癌亚组没有显著影响。

为了加强因果推理, 我们还采用了 MR-Egger 和加权中位数方法来评估影响, 结果显示出较高的稳健性。根据敏感性分析, 我们使用 MR-Egger 回归发现龋齿与任何亚组没有多效性。MR-PRESSO 异常值检测用于检测和排除分析中的异常值, 若结果为阳性, 排除后的结果与初始结果一致。由于牙周炎对结果没有影响, 我们的分析仅集中在研究龋齿与肺癌发生率之间的中介效应。在对暴露因素和中介变量进行统一后, 删除了在 PhenoScanner 中无法定位的等位基因、回文 SNP、以及无法在中介和混杂因素中找到的等位基因。IVW 方法的结果表明, 龋齿的发生可以导致 FVC 的降低 (IVW: OR = 0.819, 95% CI = 0.726-0.923, p = 0.001) 和某种结果 (IVW: OR = 0.857,

95% CI = 0.769-0.954, p = 0.005)。敏感性分析的结果如 ?? 所示。MR-PRESSO 变形测试被应用于筛选异常值, 其对结果的影响不明显。

在调和中介变量和结果数据后, 不兼容的等位基因、回文 SNP 以及无法在结果中定位的等位基因被删除。共选择了 207 个 FVC、240 个 FEV₁ 和 276 个 FEV₁/FVC SNP 作为肺功能参数的最终工具变量。所有 MR 分析表明, 肺功能指标与整体肺癌无显著关联。此外, 观察到肺功能与肺癌发病率之间存在异质性。通过 MR-Egger 回归分析未发现多效性, 但通过 MR-PRESSO 全局测试却发现了多效性。异常值被确认, 但在结果中作用可忽略不计。通过 MVMR 对身高进行额外调整并未改变结论, 正如在 ?? 中所示。

进一步的 MR 分析显示了肺癌亚型, 如在 Table II 中所示。FVC 与鳞状细胞肺癌呈负相关 ($\beta = -0.271$, p = 0.022), 并且在 FEV₁ 中观察到了类似的因果关系模式 ($\beta = -0.402$, p = 6.38×10^{-5})。换句话说, 受损的 FVC 和 FEV₁ 可能会增加鳞状细胞癌的风险。对两种中介变量的敏感性分析显示出强烈的异质性, 并且与肺癌或其亚型没有多效性。应用 MR-PRESSO 测试来确认异常值; 然而, 消除这些异常值并未产生明显的差异 (MR-PRESSO 失真测试: p > 0.05)。

TABLE II
肺功能和肺癌患者的 MR 分析结果。

Exposure	Outcome	β	OR (95 % CI)	P value
FVC	Lung cancer overall	-0.115	0.892(0.742, 1.072)	0.222
	Adenocarcinoma	0.053	1.054(0.865, 1.284)	0.601
	Small cell lung carcinoma	-0.230	0.794(0.589, 1.072)	0.132
	Squamous cell lung cancer	-0.271	0.762(0.604, 0.962)	0.022
FEV ₁	Lung cancer overall	-0.149	0.861(0.738, 1.005)	0.058
	Adenocarcinoma	-0.064	0.938(0.789, 1.115)	0.470
	Small cell lung carcinoma	-0.151	0.860(0.666, 1.110)	0.248
	Squamous cell lung cancer	-0.402	0.669(0.549, 0.815)	6.38×10^{-5}

基于 MR 分析的结果, 我们发现 FVC 和 FEV₁ 在龋齿对鳞状细胞肺癌的因果效应中起了中介作用。我们首先计算其间接效应并将其除以暴露对结果的总效应。中介比例分别为 5.124 % 和 5.890 %, 并且在引导程序后显示显著性, 如 Table III 所示。

TABLE III
估计龋齿与鳞状细胞肺癌关系的中介比例。

Mediator	β	β_1	β_2	Mediation effect size $\beta_1 * \beta_2$ (95 % CI)	Mediation proportion (%)
FVC	1.058	-0.200	-0.271	0.054(0.006, 0.121)	5.124
FEV ₁	1.058	-0.155	-0.402	0.062(0.016, 0.123)	5.890

我们进行了一个 MR 研究来探讨牙齿特征与肺癌发病率之间的因果关系, 发现龋齿发病率增加一个标准差与肺癌风险增加 152.5 % 相关 (IVW: OR = 2.525, 95 % CI = 1.454-4.384; p = 0.001)。在子组中也观察到了类似的关系。然而, 没有明显证据支持牙周炎与肺癌之间的因果关系 (IVW: OR = 0.546, 95 % CI = 0.259-1.151, p = 0.130)。此外, 我们观察到牙齿龋齿与鳞状细胞肺癌之间的因果关系部分由 FVC 和 FEV₁ 介导, 中介比例分别占 5.124 % 和 5.890 %。

一般认为, 龋齿和牙周炎通常都是由于牙菌斑的异常组成导致的 [40]。这种菌群失调使口腔成为呼吸道病原体

的储存库 [41]。因此, 呼吸系统疾病, 包括肺炎、哮喘、COPD 和肺癌, 可能会发生 [4], [41]。然而, 这两种病变之间仍然存在一些重要的差异, 这可能导致不同的 MR 结果。首先, 它们的病原体不同。变异链球菌和乳杆菌被认为是龋齿相关的病原体, 而牙龈卟啉单胞菌、福赛斯坦纳菌和密螺旋体被确认为作用于牙周炎的致病三联体 [42]。在分析非吸烟肺癌患者的唾液后, 发现乳杆菌纲和乳杆菌目富集与肺癌风险增加相关, 其中包括上述龋齿相关病原体。同时, 螺旋体纲和拟杆菌门的富集与风险减小相关, 其中包括牙周病原体 [4]。相反的相关性可以解释我们研究中不同的 MR 结果。其次, 微生物定植的解剖位置可能起到一定作用。对于龋齿, 牙斑通常位于牙齿表面和龈缘上方, 可以随唾液和气流迁移到更深的解剖位置 [42]。相反, 由于牙周袋和龈沟位置狭窄、深且难以触及, 牙周炎的牙斑难以转移。第三, 它们的致病机制彼此不同。牙周炎主要是由细菌与宿主免疫反应的相互作用引起的, 而龋齿是由细菌代谢产生的酸性副产物脱矿形成牙釉质的结果 [43], [44]。这解释了为什么这两个特征的 IVs 完全不一致, 这与之前的研究一致 [45]。

此外, 我们的中介分析表明, 牙龈疾病与鳞状细胞肺癌之间的关联中, 仅有一小部分是通过肺功能进行中介的 (FVC 为 5.124 %, FEV₁ 为 5.890 %)。一个可能的解释是, FEV₁, FVC 及其比值只是一个粗略的功能障碍替代指标, 无法完全替代肺功能损害的评估。此外, 口腔状况与肺癌之间的关系中, 异常口腔微生物引起的免疫反应、毒性影响和炎症反应可能是一个复杂的病理过程 [15]。这个过程可能涉及多个中介和调节因素, 肺功能只是其中之一。

此外, 我们采取了多项措施来最小化吸烟状态和其他可能混杂因素造成的偏差。我们首先计算了工具变量的 F 统计量, 并消除了所有弱工具以避免偏差。然后, 我们在 PhenoScanner 数据库中检索这些工具变量, 并删除了与其他因素 (特别是吸烟状态) 显著相关的工具变量。在敏感性分析中, 我们进行了 MR-PRESSO 测试, 以识别可能导致多效性并使显著结果失效的异常值。然而, 从理论上讲, 由碰撞偏差造成的额外混杂并不能完全避免 [46]。此外, 烟草使用对牙周炎和龋齿的干扰程度可能会有所不同。吸烟状态与牙周炎风险之间存在剂量-反应关系, 而烟草使用与龋齿之间的因果关系尚未得到证实 [47], [48]。这意味着牙周炎的 MR 结果比龋齿的结果更容易受到烟草的干扰。

我们的研究为肺癌筛查标准提供了新的可能性, 这些标准目前主要针对吸烟者和老年人。在一项针对高风险个体的大规模低剂量 CT 扫描研究中, 筛查组中只有 0.03 % 从不吸烟者被纳入 [49]。基于我们的结果, 牙科特征可能会被纳入创新的筛查指南。此外, 我们的发现可能会为公共卫生和临床实践带来积极进展。鉴于累积的证据表明口腔病变是呼吸系统疾病的致病因素, 对口腔疾病患者, 特别是患有龋齿和牙周炎的患者进行有效治疗, 可能有利于保护呼吸系统。一项为期两年的试点研究得出了类似的结论, 即牙周治疗可以改善慢性阻塞性肺疾病患者的肺功能 [50]。随着更多支持证据的出现, 定期口腔保健可能成为预防肺部病变的预防措施之一。此外, 对口腔环境与肿瘤相互作用机制的深入了解将有助于后续新靶向药物的设计。

本研究的优势可以总结如下。一方面, 这是首次使用双

样本 MR 研究来识别口腔病变对多种类型肺癌的因果效应。之前有众多临床试验试图探讨口腔特征与肺癌化之间的关联, 但受限于样本量限制、不稳定的随访、混杂因素的影响, 更重要的是颠倒因果关系的可能性。因此, 我们的研究在一定程度上缓解了这种不确定性, 并开辟了一种新的可能性, 涉及肺癌的遗传途径。另一方面, 从统计学角度来看, 我们关于龋齿和牙周炎的汇总数据来自现有最大的 GWAS 数据集, 并从不同的 GWAS 联盟中提取了暴露、介导因素和结果的汇总数据, 从而增强了统计能力 [51]。我们还应用了不同的 MR 敏感性分析, 并筛选了多个混杂因素, 以尽量减少来自水平多效性或其他来源的偏差。

尽管我们的庞大遗传研究得出了一些更为稳健的结论, 但仍然存在一些需要讨论的局限性。首先, 来自四个联盟的参与者都是欧洲血统, 以避免种族偏差, 但未考虑其他未知种族, 如非洲和亚洲人口。其次, 癌症的表型是二元的, 因此我们无法评估潜在的剂量依赖性变化 [52]。第三, 肺癌可以分为不同类型, 包括肺腺癌、肺鳞癌、小细胞肺癌和大细胞肺癌, 它们在致病机制上有所不同 [53]。缺乏在分子水平上的亚组剖析和仅仅采用整体考虑可能导致偏差。第四, 无论是 GWAS 还是观察性研究都无法避免因选择肺癌幸存者而导致的偏差 [54]。第五, 类似地, 这两种方法都不能完全避免混杂因素如吸烟状态的影响 [46]。

IV. 结论

我们的两步 MR 研究检测到足够的遗传证据表明龋齿可能增加肺功能不全和肺癌的风险。此外, 我们观察到 FVC 和 FEV₁ 在龋齿和鳞状细胞肺癌之间的中介效应, 但我们无法提供可信的证据来支持牙周炎在呼吸系统中起作用这一论点, 这已经被许多临床试验和荟萃分析所证实。鉴于这些途径的复杂性, 目前的发现应谨慎对待, 未来的研究应在不同层面探索机制并支持这些关联。

REFERENCES

- [1] H. Sung, J. Ferlay, R. L. Siegel, M. Laversanne, I. Soerjomataram, A. Jemal, and F. Bray, "Global cancer statistics 2020: Globocan estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries," *CA: a cancer journal for clinicians*, vol. 71, no. 3, pp. 209–249, 2021.
- [2] J. Subramanian and R. Govindan, "Lung cancer in never smokers: a review," *Journal of clinical oncology*, vol. 25, no. 5, pp. 561–570, 2007.
- [3] A. Maddi, A. Sabharwal, T. Violante, S. Manuballa, R. Genco, S. Patnaik, and S. Yendamuri, "The microbiome and lung cancer," *Journal of Thoracic Disease*, vol. 11, no. 1, p. 280, 2019.
- [4] H. D. Hosgood, Q. Cai, X. Hua, J. Long, J. Shi, Y. Wan, Y. Yang, C. Abnet, B. A. Bassig, W. Hu *et al.*, "Variation in oral microbiome is associated with future risk of lung cancer among never-smokers," *Thorax*, vol. 76, no. 3, pp. 256–263, 2021.
- [5] J.-C. J. Tsay, B. G. Wu, I. Sulaiman, K. Gershner, R. Schluger, Y. Li, T.-A. Yie, P. Meyn, E. Olsen, L. Perez *et al.*, "Lower airway dysbiosis affects lung cancer progression," *Cancer discovery*, vol. 11, no. 2, pp. 293–307, 2021.
- [6] J. Dong, W. Li, Q. Wang, J. Chen, Y. Zu, X. Zhou, and Q. Guo, "Relationships between oral microecosystem and respiratory diseases," *Frontiers in Molecular Biosciences*, vol. 8, p. 718222, 2022.
- [7] J. Yang, X. Mu, Y. Wang, D. Zhu, J. Zhang, C. Liang, B. Chen, J. Wang, C. Zhao, Z. Zuo *et al.*, "Dysbiosis of the salivary microbiome is associated with non-smoking female lung cancer and correlated with immunocytochemistry markers," *Frontiers in oncology*, vol. 8, p. 520, 2018.

- [8] E. Vogtmann, X. Hua, G. Yu, V. Purandare, A. G. Hullings, D. Shao, Y. Wan, S. Li, C. L. Dagnall, K. Jones *et al.*, "The oral microbiome and lung cancer risk: An analysis of 3 prospective cohort studies," *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*, vol. 114, no. 11, pp. 1501–1510, 2022.
- [9] D. Michaud, K. Kelsey, E. Papathanasiou, C. Genco, and E. Giovannucci, "Periodontal disease and risk of all cancers among male never smokers: an updated analysis of the health professionals follow-up study," *Annals of Oncology*, vol. 27, no. 5, pp. 941–947, 2016.
- [10] X. Mai, M. J. LaMonte, K. M. Hovey, N. Nwizu, J. L. Freudenheim, M. Tezal, F. Scannapieco, A. Hyland, C. A. Andrews, R. J. Genco *et al.*, "History of periodontal disease diagnosis and lung cancer incidence in the women's health initiative observational study," *Cancer Causes & Control*, vol. 25, pp. 1045–1053, 2014.
- [11] D. S. Michaud, J. Lu, A. Y. Peacock-Villada, J. R. Barber, C. E. Joshi, A. E. Prizment, J. D. Beck, S. Offenbacher, and E. A. Platz, "Periodontal disease assessed using clinical dental measurements and cancer risk in the alic study," *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*, vol. 110, no. 8, pp. 843–854, 2018.
- [12] H.-S. Yoon, W. Wen, J. Long, W. Zheng, W. J. Blot, and Q. Cai, "Association of oral health with lung cancer risk in a low-income population of african americans and european americans in the southeastern united states," *Lung Cancer*, vol. 127, pp. 90–95, 2019.
- [13] O. O. Yavorska and S. Burgess, "Mendelianrandomization: an r package for performing mendelian randomization analyses using summarized data," *International journal of epidemiology*, vol. 46, no. 6, pp. 1734–1739, 2017.
- [14] S. Burgess, N. M. Davies, and S. G. Thompson, "Bias due to participant overlap in two-sample mendelian randomization," *Genetic epidemiology*, vol. 40, no. 7, pp. 597–608, 2016.
- [15] Q. Mao, F. Jiang, R. Yin, J. Wang, W. Xia, G. Dong, W. Ma, Y. Yang, L. Xu, and J. Hu, "Interplay between the lung microbiome and lung cancer," *Cancer letters*, vol. 415, pp. 40–48, 2018.
- [16] A. M. Houghton, "Mechanistic links between copd and lung cancer," *Nature Reviews Cancer*, vol. 13, no. 4, pp. 233–245, 2013.
- [17] E. M. Conway, L. A. Pikor, S. H. Kung, M. J. Hamilton, S. Lam, W. L. Lam, and K. L. Bennewith, "Macrophages, inflammation, and lung cancer," *American journal of respiratory and critical care medicine*, vol. 193, no. 2, pp. 116–130, 2016.
- [18] A. S. Haqqani, J. K. Sandhu, and H. C. Birnboim, "Expression of interleukin-8 promotes neutrophil infiltration and genetic instability in mutact tumors," *Neoplasia*, vol. 2, no. 6, pp. 561–568, 2000.
- [19] H. S. Kang, Y.-M. Park, S.-H. Ko, S. H. Kim, S. Y. Kim, C. H. Kim, K. Han, and S. K. Kim, "Impaired lung function and lung cancer incidence: A nationwide population-based cohort study," *Journal of Clinical Medicine*, vol. 11, no. 4, p. 1077, 2022.
- [20] R. Kaaks, E. Christodoulou, E. Motsch, V. Katzke, M. O. Wielpütz, H.-U. Kauczor, C. P. Heussel, M. Eichinger, and S. Delorme, "Lung function impairment in the german lung cancer screening intervention study (lusi): prevalence, symptoms, and associations with lung cancer risk, tumor histology and all-cause mortality," *Translational Lung Cancer Research*, vol. 11, no. 9, p. 1896, 2022.
- [21] E. Calabrò, G. Randi, C. La Vecchia, N. Sverzellati, A. Marchionò, M. Villani, M. Zompatori, R. Cassandro, S. Harari, and U. Pastorino, "Lung function predicts lung cancer risk in smokers: a tool for targeting screening programmes," *European Respiratory Journal*, vol. 35, no. 1, pp. 146–151, 2010.
- [22] W.-C. Lee, E. Fu, C.-H. Li, R.-Y. Huang, H.-C. Chiu, W.-C. Cheng, and W.-L. Chen, "Association between periodontitis and pulmonary function based on the third national health and nutrition examination survey (nhanes iii)," *Journal of Clinical Periodontology*, vol. 47, no. 7, pp. 788–795, 2020.
- [23] X. Ye, B. Liu, Y. Bai, Y. Cao, S. Lin, L. Lyu, H. Meng, Y. Dai, D. Ye, W. Pan *et al.*, "Genetic evidence strengthens the bidirectional connection between gut microbiota and periodontitis: insights from a two-sample mendelian randomization study," *Journal of Translational Medicine*, vol. 21, no. 1, p. 674, 2023.
- [24] Z.-N. Zhao, Z.-Q. Zhang, Q.-Q. Wang, B.-L. Zhao, H. Wang, X.-J. Ge, and F.-Y. Yu, "Genetic predisposition to periodontitis and risk of migraine: A two-sample mendelian randomization study," *Neurology and Therapy*, pp. 1–11, 2023.
- [25] M. Nolde, B. Holtfreter, T. Kocher, Z. Alayash, S. L. Reckelkamm, B. Ehmke, H. Baurecht, and S.-E. Baumeister, "No bidirectional relationship between depression and periodontitis: A genetic correlation and mendelian randomization study," *Frontiers in Immunology*, vol. 13, p. 918404, 2022.
- [26] S. Burgess, S. G. Thompson, and C. C. G. Collaboration, "Avoiding bias from weak instruments in mendelian randomization studies," *International journal of epidemiology*, vol. 40, no. 3, pp. 755–764, 2011.
- [27] J. D. McKay, R. J. Hung, Y. Han, X. Zong, R. Carreras-Torres, D. C. Christiani, N. E. Caporaso, M. Johansson, X. Xiao, Y. Li *et al.*, "Large-scale association analysis identifies new lung cancer susceptibility loci and heterogeneity in genetic susceptibility across histological subtypes," *Nature genetics*, vol. 49, no. 7, pp. 1126–1132, 2017.
- [28] S. Burgess, R. A. Scott, N. J. Timpson, G. Davey Smith, S. G. Thompson, and E.-I. Consortium, "Using published data in mendelian randomization: a blueprint for efficient identification of causal risk factors," *European journal of epidemiology*, vol. 30, pp. 543–552, 2015.
- [29] M. A. Kamat, J. A. Blackshaw, R. Young, P. Surendran, S. Burgess, J. Danesh, A. S. Butterworth, and J. R. Staley, "Phenoscan v2: an expanded tool for searching human genotype–phenotype associations," *Bioinformatics*, vol. 35, no. 22, pp. 4851–4853, 2019.
- [30] G. Hemani, J. Bowden, and G. Davey Smith, "Evaluating the potential role of pleiotropy in mendelian randomization studies," *Human molecular genetics*, vol. 27, no. R2, pp. R195–R208, 2018.
- [31] J. Bowden, G. Davey Smith, P. C. Haycock, and S. Burgess, "Consistent estimation in mendelian randomization with some invalid instruments using a weighted median estimator," *Genetic epidemiology*, vol. 40, no. 4, pp. 304–314, 2016.
- [32] J. Bowden, F. Del Greco M, C. Minelli, G. Davey Smith, N. A. Sheehan, and J. R. Thompson, "Assessing the suitability of summary data for two-sample mendelian randomization analyses using mr-egger regression: the role of the i² statistic," *International journal of epidemiology*, vol. 45, no. 6, pp. 1961–1974, 2016.
- [33] M.-J. A. Brion, K. Shakhbazov, and P. M. Visscher, "Calculating statistical power in mendelian randomization studies," *International journal of epidemiology*, vol. 42, no. 5, pp. 1497–1501, 2013.
- [34] M. Verbanck, C.-Y. Chen, B. Neale, and R. Do, "Detection of widespread horizontal pleiotropy in causal relationships inferred from mendelian randomization between complex traits and diseases," *Nature genetics*, vol. 50, no. 5, pp. 693–698, 2018.
- [35] S. L. A. Yeung, M. C. Borges, D. A. Lawlor, and C. M. Schooling, "Impact of lung function on cardiovascular diseases and cardiovascular risk factors: a two sample bidirectional mendelian randomisation study," *Thorax*, vol. 77, no. 2, pp. 164–171, 2022.
- [36] A. R. Wood, T. Esko, J. Yang, S. Vedantam, T. H. Pers, S. Gustafsson, A. Y. Chu, K. Estrada, J. Luan, Z. Kutalik *et al.*, "Defining the role of common variation in the genomic and biological architecture of adult human height," *Nature genetics*, vol. 46, no. 11, pp. 1173–1186, 2014.
- [37] S. L. Au Yeung, A. M. Li, B. He, K. O. Kwok, and C. M. Schooling, "Association of smoking, lung function and copd in covid-19 risk: a two-step mendelian randomization study," *Addiction*, vol. 117, no. 7, pp. 2027–2036, 2022.
- [38] J. R. Thompson, C. Minelli, and F. Del Greco M, "Mendelian randomization using public data from genetic consortia," *The international journal of biostatistics*, vol. 12, no. 2, p. 20150074, 2016.
- [39] Z. Liu, R. Liu, Y. Zhang, R. Zhang, L. Liang, Y. Wang, Y. Wei, R. Zhu, and F. Wang, "Association between perceived stress and depression among medical students during the outbreak of covid-19: The mediating role of insomnia," *Journal of affective disorders*, vol. 292, pp. 89–94, 2021.

- [40] J. L. Pathak, Y. Yan, Q. Zhang, L. Wang, and L. Ge, "The role of oral microbiome in respiratory health and diseases," *Respiratory Medicine*, vol. 185, p. 106475, 2021.
- [41] F. A. Scannapieco, "Role of oral bacteria in respiratory infection," *Journal of periodontology*, vol. 70, no. 7, pp. 793–802, 1999.
- [42] R. J. Lamont, H. Koo, and G. Hajishengallis, "The oral microbiota: dynamic communities and host interactions," *Nature reviews microbiology*, vol. 16, no. 12, pp. 745–759, 2018.
- [43] M. S. Tonetti, H. Greenwell, and K. S. Kornman, "Staging and grading of periodontitis: Framework and proposal of a new classification and case definition," *Journal of periodontology*, vol. 89, pp. S159–S172, 2018.
- [44] N. J. Kassebaum, A. G. Smith, E. Bernabé, T. D. Fleming, A. E. Reynolds, T. Vos, C. Murray, W. Marcenes, and G. . O. H. Collaborators, "Global, regional, and national prevalence, incidence, and disability-adjusted life years for oral conditions for 195 countries, 1990–2015: a systematic analysis for the global burden of diseases, injuries, and risk factors," *Journal of dental research*, vol. 96, no. 4, pp. 380–387, 2017.
- [45] L. Nibali, A. Di Iorio, Y.-K. Tu, and A. R. Vieira, "Host genetics role in the pathogenesis of periodontal disease and caries," *Journal of clinical periodontology*, vol. 44, pp. S52–S78, 2017.
- [46] F. P. Hartwig, K. Tilling, G. Davey Smith, D. A. Lawlor, and M. C. Borges, "Bias in two-sample mendelian randomization when using heritable covariable-adjusted summary associations," *International journal of epidemiology*, vol. 50, no. 5, pp. 1639–1650, 2021.
- [47] X. Jiang, X. Jiang, Y. Wang, and R. Huang, "Correlation between tobacco smoking and dental caries: A systematic review and meta-analysis," *Tobacco induced diseases*, vol. 17, 2019.
- [48] P. J. Ford and A. M. Rich, "Tobacco use and oral health," *Addiction*, vol. 116, no. 12, pp. 3531–3540, 2021.
- [49] J. K. Field, S. W. Duffy, D. R. Baldwin, K. E. Brain, A. Devaraj, T. Eisen, B. A. Green, J. A. Holemans, T. Kavanagh, K. M. Kerr *et al.*, "The uk lung cancer screening trial: a pilot randomised controlled trial of low-dose computed tomography screening for the early detection of lung cancer." *Health technology assessment (Winchester, England)*, vol. 20, no. 40, p. 1, 2016.
- [50] X. Zhou, J. Han, Z. Liu, Y. Song, Z. Wang, and Z. Sun, "Effects of periodontal treatment on lung function and exacerbation frequency in patients with chronic obstructive pulmonary disease and chronic periodontitis: A 2-year pilot randomized controlled trial," *Journal of clinical periodontology*, vol. 41, no. 6, pp. 564–572, 2014.
- [51] D. A. Lawlor, "Commentary: Two-sample mendelian randomization: opportunities and challenges," *International journal of epidemiology*, vol. 45, no. 3, pp. 908–915, 2016.
- [52] S. Burgess and J. A. Labrecque, "Mendelian randomization with a binary exposure variable: interpretation and presentation of causal estimates," *European journal of epidemiology*, vol. 33, pp. 947–952, 2018.
- [53] A. G. Nicholson, M. S. Tsao, M. B. Beasley, A. C. Borczuk, E. Brambilla, W. A. Cooper, S. Dacic, D. Jain, K. M. Kerr, S. Lantuejoul *et al.*, "The 2021 who classification of lung tumors: impact of advances since 2015," *Journal of Thoracic Oncology*, vol. 17, no. 3, pp. 362–387, 2022.
- [54] C. Mary Schooling, J. V. Zhao, S. L. Au Yeung, and M. K. Kwok, "Letter in response to 'bias in two-sample mendelian randomization when using heritable covariable-adjusted summary associations' — 'interpreting mendelian randomization studies pre-adjusted for the heritable covariable survival to recruitment'," *International Journal of Epidemiology*, vol. 50, no. 5, pp. 1744–1745, 2021.