

脂质体与肾透明细胞癌的遗传关系： 一项两样本孟德尔随机化研究

王伟昊¹, 赵科元², 潘寿华^{2*}

¹绍兴文理学院, 医学院, 浙江 绍兴

²绍兴市人民医院, 泌尿外科, 浙江 绍兴

收稿日期: 2024年5月26日; 录用日期: 2024年6月21日; 发布日期: 2024年6月29日

摘要

目的: 现有研究表明, 脂质体水平与肾透明细胞癌(Clear Cell Renal Cell Carcinoma, ccRCC)之间存在相关性。然而, 对于脂质体与肾透明细胞癌之间的因果关系, 现有文献尚未达成一致意见。本研究采用两样本孟德尔随机化(Mendelian Randomization, MR)分析来严格评估两者之间的因果关系。方法: 采用可公开获取的全基因组关联研究(GWSA)数据库进行MR分析。本研究的中心方法是逆方差加权(Inverse-Variance Weighting, IVW)荟萃分析, 同时联合贝叶斯加权孟德尔随机化(Bayesian Weighted Mendelian Randomization, BWMR)进一步验证结果, Cochran's Q和MR-Egger等方法进行补充研究。结果: 在MR结合BWMR分析中, 发现8个与ccRCC具有直接因果关联的脂质体。卵磷脂O-18:2_16:0 (OR: 0.766, 95%CI: 0.605~0.970, $p = 0.027$)降低ccRCC发病风险; 卵磷脂16:0_0:0 (OR: 1.231, 95%CI: 1.002~1.514, $p = 0.048$)、卵磷脂18:1_18:3 (OR: 1.609, 95%CI: 1.117~2.318, $p = 0.011$)、卵磷脂O-16:0_20:4 (OR: 1.188, 95%CI: 1.013~1.393, $p = 0.034$)、脑磷脂16:0_20:4 (OR: 1.173, 95%CI: 1.020~1.348, $p = 0.025$)、脑磷脂18:0_20:4 (OR: 1.359, 95%CI: 1.149~1.608, $p = 0.001$)、甘油三酯48:1 (OR: 1.259, 95%CI: 1.002~1.523, $p = 0.048$)及甘油三酯48:2 (OR: 1.292, 95%CI: 1.033~1.615, $p = 0.025$)增加ccRCC患病风险。结论: 基因预测结果显示脂质体与肾透明细胞癌之间存在遗传因果关系, 这为未来更多的临床研究提供了理论支持和基础。

关键词

两样本孟德尔随机化分析, 肾透明细胞癌, 脂质体, 贝叶斯加权孟德尔随机化

Genetic Relationship between Lipidomes and Clear Cell Renal Cell Carcinoma: Two-Sample Mendelian Randomization Study

*通讯作者。

文章引用: 王伟昊, 赵科元, 潘寿华. 脂质体与肾透明细胞癌的遗传关系: 一项两样本孟德尔随机化研究[J]. 临床医学进展, 2024, 14(6): 1182-1189. DOI: 10.12677/acm.2024.1461896

Weihaio Wang¹, Keyuan Zhao², Shouhua Pan^{2*}

¹School of Medicine, Shaoxing University, Shaoxing Zhejiang

²Department of Urology, Shaoxing People's Hospital, Shaoxing Zhejiang

Received: May 26th, 2024; accepted: Jun. 21st, 2024; published: Jun. 29th, 2024

Abstract

Objective: Existing studies suggest an association between lipidomes levels and clear cell renal cell carcinoma (ccRCC). However, consensus regarding the causal relationship between lipidomes and ccRCC has not been reached in current literature. This study aimed to rigorously assess the causal relationship between lipidome levels and ccRCC using Mendelian randomization (MR) analysis with two independent samples. **Methods:** Mendelian randomization analysis was conducted using publicly available genome-wide association study (GWSA) databases. The central method employed was inverse-variance weighting (IVW) meta-analysis, supplemented by Bayesian weighted Mendelian randomization (BWMR) to further validate the results, along with methods such as Cochran's Q and MR-Egger. **Results:** In the MR combined with BWMR analysis, eight lipidomes traits were found to have a direct causal association with ccRCC. Decreased levels of phosphatidylcholine 0-18:2_16:0 (OR: 0.766, 95%CI: 0.605~0.970, $p = 0.027$) were associated with a reduced risk of ccRCC. Increased risk of ccRCC was associated with phosphatidylcholine 16:0_0:0 (OR: 1.231, 95%CI: 1.002~1.514, $p = 0.048$), phosphatidylcholine 18:1_18:3 (OR: 1.609, 95%CI: 1.117~2.318, $p = 0.011$), phosphatidylcholine 0-16:0_20:4 (OR: 1.188, 95%CI: 1.013~1.393, $p = 0.034$), phosphatidylethanolamine 16:0_20:4 (OR: 1.173, 95%CI: 1.020~1.348, $p = 0.025$), phosphatidylethanolamine 18:0_20:4 (OR: 1.359, 95%CI: 1.149~1.608, $p = 0.001$), triglyceride 48:1 (OR: 1.259, 95%CI: 1.002~1.523, $p = 0.048$), and triglyceride 48:2 (OR: 1.292, 95%CI: 1.033~1.615, $p = 0.025$). **Conclusion:** Genetic prediction indicates a causal relationship between lipidome levels and ccRCC, providing theoretical support and a basis for future clinical research.

Keywords

Two-Sample Mendelian Randomization Analysis, Clear Cell Renal Cell Carcinoma, Lipidomes, Bayesian Weighted Mendelian Randomization

Copyright © 2024 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 介绍

肾细胞癌是全球十大最常见的诊断性癌症之一，具有多种组织学和遗传亚型。其中，肾透明细胞癌 (ccRCC) 占肾癌相关死亡的 75% [1]。研究表明，吸烟、肥胖、高血压、慢性肾脏疾病及终末期肾病被广泛认为是可导致 ccRCC 的危险因素 [2]。目前，临床上治疗局部 ccRCC 的主要方法是手术切除或消融，但对于晚期疾病的治疗选择有限 [3]。因此，我们迫切需要深入研究 ccRCC 的发病机制，识别有效的预防和治疗靶点，以及开发早期诊断方法。

脂质体是当前医学研究中备受关注的新兴领域，它是生物体内成千上万脂质分子的集合，如甘油三酯、卵磷脂、脑磷脂等 [4]。脂质在细胞功能中扮演着重要角色，参与了膜形成、细胞间信号传递、能量

储存和体内平衡维持等关键过程[5]。值得注意的是,近来研究发现,脂质体在肿瘤发生发展过程中起到作用,如多不饱和醚磷脂能够诱导肾癌及乳腺癌中的铁下垂易感性,从而改善对肿瘤生长的控制[6]。然而遗憾的是,对于脂质体与 ccRCC 之间是否存在直接因果关系,以及哪些特异性脂质体与 ccRCC 相关仍存在争议。尽管已经有一些研究表明某些脂质体与 ccRCC 相关,但大多数证据的可靠性较低,容易受到混杂因素或反向因果关系的影响。因此,我们需要采用新的可靠方法来阐明脂质体与 ccRCC 之间的遗传因果关系。

随着人类基因组计划等的完成,越来越多的疾病显示与表观遗传学相关联。MR [7]是一种流行病学研究设计方法,它使用 SNP 作为暴露因素,并将遗传变异作为工具变量(IVs),从而消除了观察性研究中常见的混杂因素和反向因果关系的可能性。通过这种方法,可以更可靠地评估暴露因素对健康结果的影响,提供更接近真实因果关系的估计。BWMR [8]是一种结合了贝叶斯统计学和孟德尔随机化的方法,用于估计因果效应和不确定性,其通过给予更高权重的遗传变异更多的信任度,从而得出更为可靠的因果关系结果。本研究采用两样本孟德尔随机化联合贝叶斯加权孟德尔随机化,探讨脂质体与肾透明细胞癌之间的因果关系,筛选出与肾透明细胞癌有直接因果关系的脂质体,为肾透明细胞癌的早期筛查和治疗等提供参考依据。

2. 方法

在这项研究中,我们进行了两样本 MR 分析,来评估脂质体对肾透明细胞癌的影响。MR 分析依赖于一下三个假设:遗传变异仅通过暴露而影响结果,而不是通过其他途径;遗传变异与暴露有关;遗传变异与混杂因素无关。本研究的设计示意图如图 1 所示。

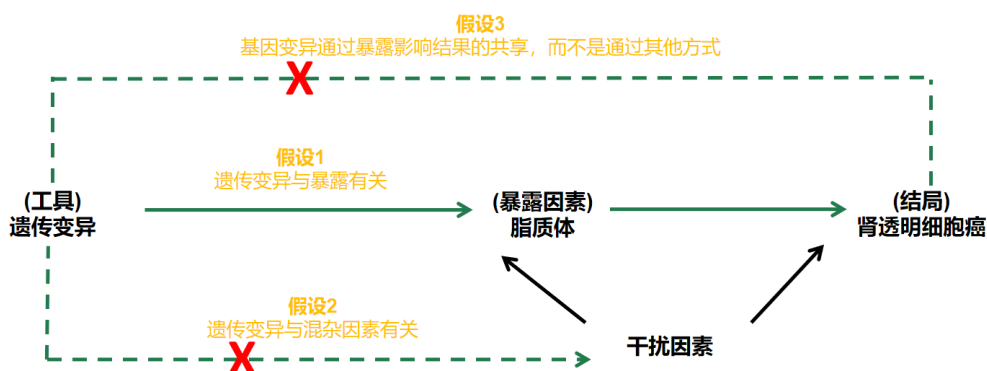


Figure 1. Current MR overview of the relationship between lipidomics and renal clear cell carcinoma
图 1. 脂质组与肾透明细胞癌之间关系的当前 MR 概述

2.1. 数据源

从 GWSA catalog 中获得单核苷酸多态性(SNP)-表型相关信息。肾透明细胞癌公开的总数据来自于 FinnGen 数据库,其中包括 314,193 名欧洲血统的参与者。本研究所涉及的遗传数据集具体信息见表 1。

2.2. 遗传工具变量的选择

为了确保脂质体与 ccRCC 之间稳定的因果关系,本研究选择对脂质体具有全基因组意义的遗传变异 SNPs 作为 IVs ($p < 5 \times 10^{-8}$) [9]。通过评估连锁不平衡,以确定是否存在显示连锁不平衡状态的 SNPs。为此,根据 R^2 小于 0.001 的阈值,在 10000 kb 窗口内修剪 SNPs,确保 SNP 之间的独立性[10]。剔除了与任何混杂因素和 ccRCC 相关的 SNPs。最后,本研究进行了 SNP 协调,以矫正等位基因的方向。

Table 1. Detailed information on research and datasets used for analysis
表 1. 用于分析的研究和数据集的详细信息

暴露/结局		数据库	种族人群	参与者数	性别
脂质体	卵磷脂(16:0_0:0)	Gwas catalog	欧洲人	7174	男性与女性
	卵磷脂(16:0_20:2)	Gwas catalog	欧洲人	7135	男性与女性
	卵磷脂(18:1_18:3)	Gwas catalog	欧洲人	6339	男性与女性
	卵磷脂(O-16:0_20:4)	Gwas catalog	欧洲人	7174	男性与女性
	软磷脂(O-18:2_16:0)	Gwas catalog	欧洲人	7158	男性与女性
	脑磷脂(16:0_20:4)	Gwas catalog	欧洲人	6666	男性与女性
	脑磷脂(18:0_20:4)	Gwas catalog	欧洲人	7164	男性与女性
	甘油三酯(48:1)	Gwas catalog	欧洲人	7019	男性与女性
	甘油三酯(48:2)	Gwas catalog	欧洲人	7071	男性与女性
结局	肾透明细胞癌	Finngen	欧洲人	314,193	男性与女性

2.3. MR 联合 BWMR 分析

通过进行全面的两样本 MR 分析，我们得到初步的因果关系。初步分析采用逆方差加权法(IVW) [11]。此外我们采用 MR-Egger、weighted median、simple mode 以及 weighted mode 进行了互补分析。在这 5 种方法中，IVW 和 MR-Egger 被认为是确定结果最重要的分析方法，当 $p < 0.05$ 是，则可认为相应的脂质体与 ccRCC 之间存在遗传因果关系。为了使研究更为准确，我们在 MR 分析的基础上增加了 BWMR 分析。BWMR 一种结合了贝叶斯统计学原理和孟德尔遗传学原理的数据分析方法，利用先验知识对遗传特征进行加权处理，并考虑到随机化实验设计的因素。这种方法可能有助于更灵活地处理复杂的因果推断问题，同时更准确地反应遗传特征之间的真实因果关系[12]。为了解决潜在的多效性，采用了 MR-Egger 回归方法。在 MR-Egger 方法中，利用基因暴露系数进行加权线性回归分析，将其作为自变量，而基因结果系数作为因变量[13]。

2.4. 敏感性分析

为了增强研究结果的置信度，我们进行了敏感性分析以验证 MR 分析的阳性结果。对于阳性结果，我们首先采用了 Cochran’s Q 检验来检验工具变量(IVs)之间的异质性。如果 p 值小于 0.05，则表示 IVs 之间存在异质性；反之，则表示不存在。接下来，我们使用了 MR-Egger 方法，该方法在回归分析中考虑了截距项。通过水平多重效度检验，我们对 MR-Egger 方法和 IVW 方法进行了比较，以验证 IVs 之间是否存在水平多效性[14]。如果截距的 p 值小于 0.05，则表示存在显著的多效性。此外，我们还利用散点图和漏斗图进行敏感性分析，如果漏斗图呈对称形状，则说明结果是稳定的。

2.5. 统计分析

采用统计软件 R (版本 4.3.3)中的“TwoSampleMR”和“MRPRESSO”软件包对暴露和结果的影响等位基因进行了匹配。当 p 值小于 0.05 时，表示差异具有统计学意义。

3. 结果

3.1. MR 联合 BWMR 分析结果

对 179 个脂质体与肾透明细胞癌的 MR 分析结果显示，一共有 9 种脂质体与 ccRCC 之间存在直接因

果关系。卵磷脂 O-18:2_16:0 (OR: 0.743, 95%CI: 0.591~0.934, $p = 0.011$)与 ccRCC 发病风险升高呈负相关; ccRCC 发病高风险与卵磷脂 16:0_0:0 (OR: 1.231, 95%CI: 1.002~1.514, $p = 0.048$)、卵磷脂 18:1_18:3 (OR: 1.609, 95%CI: 1.117~2.318, $p = 0.011$)、卵磷脂 O-16:0_20:4 (OR: 1.188, 95%CI: 1.013~1.393, $p = 0.034$)、脑磷脂 16:0_20:4 (OR: 1.173, 95%CI: 1.020~1.348, $p = 0.025$)、脑磷脂 18:0_20:4 (OR: 1.359, 95%CI: 1.149~1.608, $p = 0.001$)、甘油三酯 48:1 (OR: 1.259, 95%CI: 1.002~1.523, $p = 0.048$)及甘油三酯 48:2 (OR: 1.292, 95%CI: 1.033~1.615, $p = 0.025$)呈正相关因果关系(图 2)。为了使结果更具有可靠的置信度, 我们使用 BWMR 分析验证 MR 分析结果。BWMR 分析结果大致与 MR 分析结果一致, 卵磷脂 O-18:2_16:0 (OR: 0.743, 95%CI: 0.591~0.934, $p = 0.011$)与 ccRCC 发病风险升高呈负相关; ccRCC 发病高风险与卵磷脂 16:0_0:0 (OR: 1.242, 95%CI: 1.000~1.542, $p = 0.050$)、卵磷脂 18:1_18:3 (OR: 1.625, 95%CI: 1.183~2.231, $p = 0.003$)、卵磷脂 O-16:0_20:4 (OR: 1.222, 95%CI: 1.042~1.432, $p = 0.013$)、脑磷脂 16:0_20:4 (OR: 1.174, 95%CI: 1.016~1.356, $p = 0.030$)、脑磷脂 18:0_20:4 (OR: 1.399, 95%CI: 1.169~1.674, $p = 0.001$)、甘油三酯 48:1 (OR: 1.276, 95%CI: 1.003~1.623, $p = 0.047$)及甘油三酯 48:2 (OR: 1.315, 95%CI: 1.041~1.661, $p = 0.022$)呈正相关因果关系; 而卵磷脂 16:0_20:2 由于 $p = 0.111$ 大于 0.05, 不具有统计学意义, 因此被剔除(图 3)。这些结果进一步表明当前 MR 分析的可靠一致性。

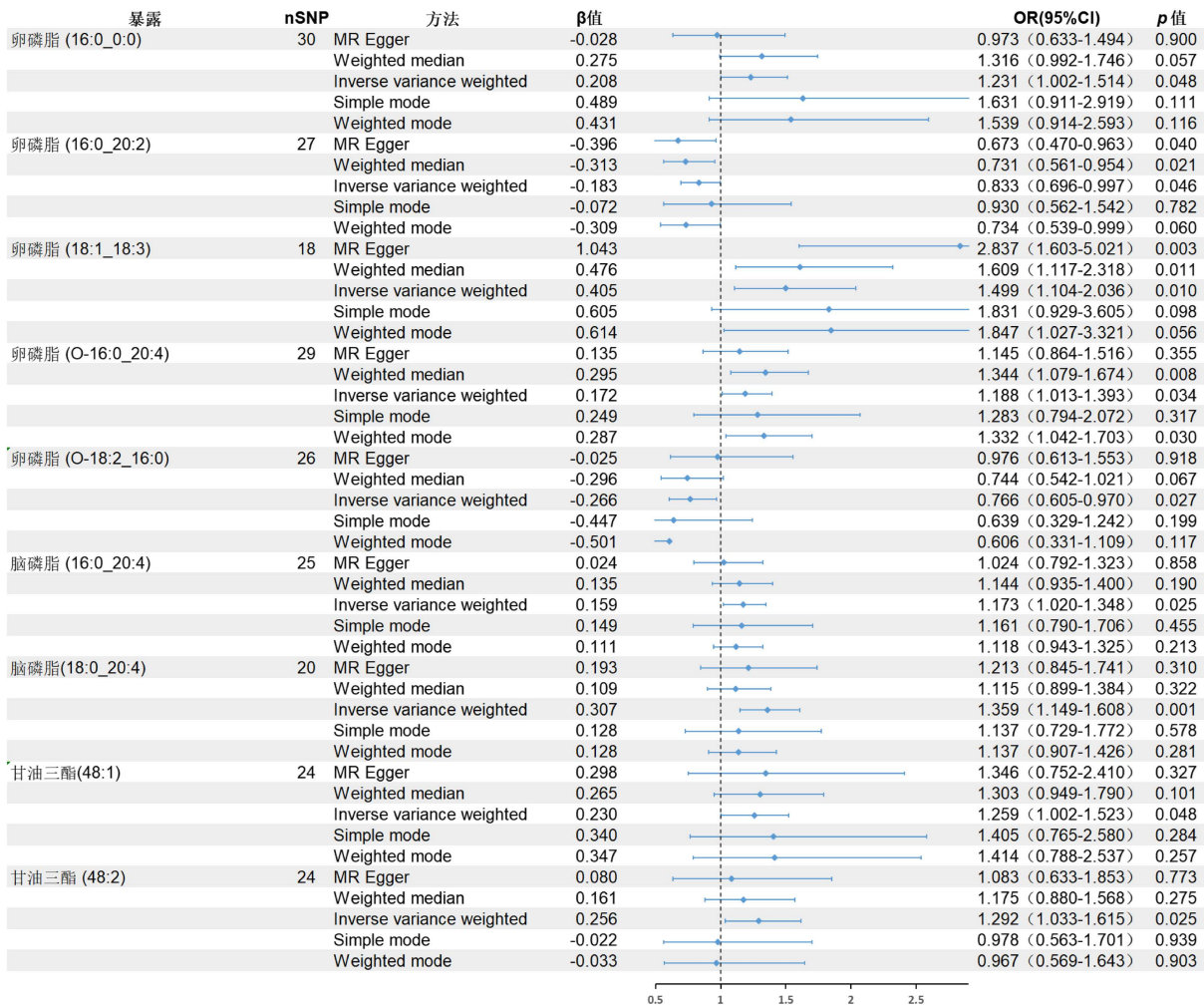


Figure 2. Mendelian randomization analysis of liposomes and renal clear cell carcinoma

图 2. 脂质体与肾透明细胞癌的孟德尔随机化分析

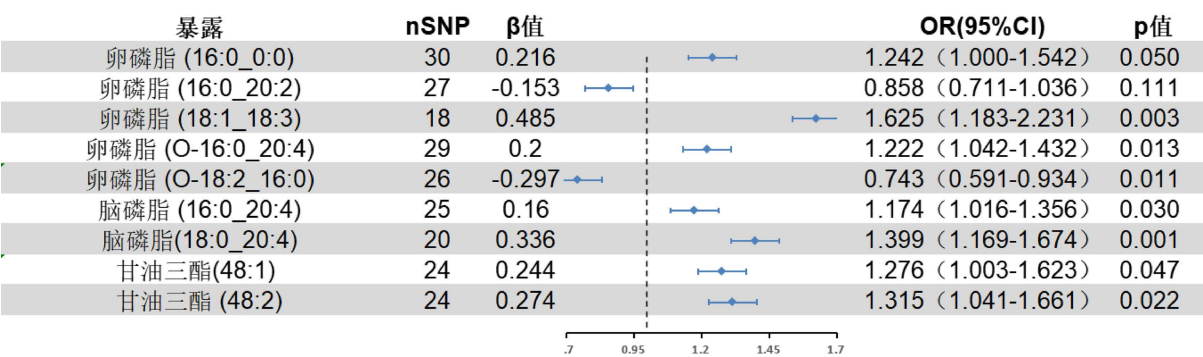


Figure 3. Bayesian weighted Mendelian randomization of liposomes and renal clear cell carcinoma

图 3. 脂质体与肾透明细胞癌的贝叶斯加权孟德尔随机化

3.2. 水平多效性与异质性分析

MR-Egger 分析结果显示，卵磷脂 O-18:2_16:0 等 8 种脂质体均存在显著的水平多效性($p < 0.05$)。Cochran’s Q 检验显示，选择的遗传根据之间明显没有显著的异质性($p < 0.05$)，因此我们采用固定效应模型来表示最终分析的效应大小结果(表 2)。

Table 2. Heterogeneity and pleiotropy testing of MR analysis in this study

表 2. 本研究 MR 分析的异质性和多效性检验

暴露	结局	异质性		多效性	
		Cochran’s Q	p 值	Egger-intercept	p 值
卵磷脂(16:0_0:0)	肾透明细胞癌	18.118	0.923	0.033	0.027
卵磷脂(18:1_18:3)	肾透明细胞癌	17.231	0.371	-0.085	0.034
卵磷脂(O-16:0_20:4)	肾透明细胞癌	15.624	0.960	0.007	0.027
卵磷脂(O-18:2_16:0)	肾透明细胞癌	29.108	0.216	-0.040	0.034
脑磷脂(16:0_20:4)	肾透明细胞癌	18.462	0.732	0.031	0.025
脑磷脂(18:0_20:4)	肾透明细胞癌	23.649	0.167	0.030	0.042
甘油三酯(48:1)	肾透明细胞癌	16.684	0.781	-0.009	0.035
甘油三酯(48:2)	肾透明细胞癌	13.740	0.910	0.025	0.036

4. 讨论

肾细胞癌是全球男性与女性中最常见的十大肿瘤之一，也是泌尿系统常见的恶性肿瘤之一。ccRCC 占有肾癌亚型的 70%~80%，也是肾癌导致死亡的最大亚型[1]。对于局部早期的 ccRCC，手术方法通常能够成功治疗，然而对于晚期转移的 ccRCC，目前的治疗选择仍然有限，患者的长期生存率一直维持在较低水平，这给临床治疗带来了挑战。近来研究发现，脂质体在癌症的发生及进展中发挥着重要的作用。Yiqing Du [15]等研究表明，在 ccRCC 组织中溶血磷脂酰胆碱酰基转移酶-1 过表达，且其通过将溶血磷脂酰胆碱转换为磷脂酰胆碱从而促进肿瘤的发展和进展。然而，混杂因素和方向因果关系的干扰往往会影响这些观察性研究的结果，目前仍然不清楚这些脂质体的变化是导致 ccRCC 发生的原因，还是对 ccRCC 的一种反应。因此，迫切需要进行更全面、可靠的研究，以探究 ccRCC 和脂质体之间的作用机制。

MR 分析利用遗传变异作为可变因素来评估暴露与结果之间的因果关系,从而消除了观察性研究中常见的混杂因素和反向因果关系的影响。结合 BWMR 分析可进一步提高研究结果的严谨性,确保对暴露因素与结果之间的因果关系进行更准确的评估。我们联合使用 MR 分析和 BWMR 分析,研究了 ccRCC 与脂质体之间的因果关系。我们的结果显示,卵磷脂 O-18:2_16:0 水平降低和 3 种类型卵磷脂(卵磷脂 16:0_0:0,卵磷脂 18:1_18:3 和卵磷脂 O-16:0_20:4)、2 种类型脑磷脂(脑磷脂 16:0_20:4 和脑磷脂 18:0_20:4)及 2 种类型甘油三酯(甘油三酯 48:1 和甘油三酯 48:2)水平升高与 ccRCC 的高风险相关。

脑磷脂于 1876 年首次被发现,是脂筏和糖突触的基本组成部分,参与了诸多重要生物学过程,包括膜转运、蛋白质分选、生物能量学、囊泡运输、信号接收和转导、基因表达和调控、细胞迁移、细胞周期、衰老和细胞死亡等[16]。研究表明,肾透明细胞癌是一种脂质失调的恶性肿瘤。当沉默 SET 结构域 2 (SETD2)基因后,会导致广泛的代谢重编程事件,最终增强鞘磷脂生物合成,从而促进肾透明细胞癌的发生[17]。尽管传统甘油三酯被认为是能量储存的功能,但近年的研究揭示了甘油三酯可能影响癌症进展的潜在机制,如甘油三酯水解释放的脂肪酸可作为信号分子,调节参与细胞增殖、凋亡抵抗、炎症和血管生成等关键癌症发展过程的通路。Dong Yue 等[18]研究发现,患有肾透明细胞癌患者血浆中甘油三酯水平明显高于正常对照组血浆中的甘油三酯水平。这个研究发现与我们的研究结果相同,即甘油三酯水平与肾透明细胞癌高风险正相关。本 MR 分析结果显示,虽都属于卵磷脂,但卵磷脂 O-18:2_16:0 水平升高与 ccRCC 高风险呈负相关,其余三种卵磷脂呈正相关。在肿瘤作用机制上,这些分子结构的差异导致其具有截然相反的影响。在这种命名方法中,“O”表示酰基位置,数字表示碳链长度,“:”后面的数字表示不饱和度(双键的数目),例如,“18:2”表示碳链长度为 18 个碳原子,其中有两个双键。分子结构上的差异导致其在肿瘤作用机制上的截然相反。在肾透明细胞癌中,卵磷脂的确切作用机制尚未完全阐明,有研究表明,甘油三酯代谢异常可能参与调节上皮-间充质转化(EMT),从而促进肿瘤的转移和侵袭[19]。此外,甘油三酯代谢产生的生物活性脂质分子可能参与调节多种信号通路,包括细胞增殖、凋亡和炎症。有研究报道,ccRCC 组织中甘油三酯比正常肾组织中水平更高[20]。针对不同类型卵磷脂在肾透明细胞癌中作用相反这一结果,未来亟待进一步研究阐明具体的作用机制。

我们的研究具有以下几个优点:首先,我们利用 GWSA 数据推断脂质体与 ccRCC 之间的因果关系,有效地降低了潜在的混杂因素及反向偏倚。其次,我们采用了敏感性分析等方法来确保结果的可靠性。最后,相较于传统 MR 分析,我们引入了 BWMR 分析,使结果更加全面和准确。然而,这项研究也存在一些不可避免的局限性:首先,所有 GWAS 数据都来自欧洲人群,我们的发现是否在不同人群中具有一致性,还有待观察。其次,我们的证据主要来自于反映脂质体长期功能的遗传学,因此还需要更多实验验证。最后,现有研究尚未解释脂质体与 ccRCC 之间相互作用的具体机制。基于这些,我们认为未来需要进一步研究脂质体与 ccRCC 的相关性,为探索治疗或预防 ccRCC 提供新的方向和思路。

5. 结论

综上所述,本研究使用 MR 分析方法揭示了 8 种脂质体与肾透明细胞癌之间的因果关系。研究结果显示,卵磷脂 O-18:2_16:0 水平的降低与 ccRCC 风险的增加相关,而其余 7 种脂质体水平的增加与 RCC 风险的增加相关。然而,后续需要进一步的研究来评估这些生物标志物作为 RCC 早期预测因素以及预防策略的潜力。

参考文献

- [1] Hsieh, J.J., Purdue, M.P., Signoretti, S., Swanton, C., Albiges, L., Schmidinger, M., *et al.* (2017) Renal Cell Carcinoma. *Nature Reviews Disease Primers*, 3, Article No. 17009. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2017.9>

- [2] Bukavina, L., Bensalah, K., Bray, F., Carlo, M., Challacombe, B., Karam, J.A., *et al.* (2022) Epidemiology of Renal Cell Carcinoma: 2022 Update. *European Urology*, **82**, 529-542. <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2022.08.019>
- [3] Stolpa, W., Stręk-Cholewińska, A. and Mizia-Malarz, A. (2022) Clear Cell Renal Cell Carcinoma, Diagnostic and Therapeutic Difficulties, Case Report and Literature Review. *Medicina*, **58**, Article 1329. <https://doi.org/10.3390/medicina58101329>
- [4] Hampel, H., Nisticò, R., Seyfried, N.T., Levey, A.I., Modeste, E., Lemercier, P., *et al.* (2021) Omics Sciences for Systems Biology in Alzheimer's Disease: State-of-the-Art of the Evidence. *Ageing Research Reviews*, **69**, Article 101346. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2021.101346>
- [5] Yoon, J.H., Seo, Y., Jo, Y.S., Lee, S., Cho, E., Cazenave-Gassiot, A., *et al.* (2022) Brain Lipidomics: From Functional Landscape to Clinical Significance. *Science Advances*, **8**, eadc9317. <https://doi.org/10.1126/sciadv.adc9317>
- [6] Zou, Y., Henry, W.S., Ricq, E.L., Graham, E.T., Phadnis, V.V., Maretich, P., *et al.* (2020) Plasticity of Ether Lipids Promotes Ferroptosis Susceptibility and Evasion. *Nature*, **585**, 603-608. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2732-8>
- [7] Skrivankova, V.W., Richmond, R.C., Woolf, B.A.R., Yarmolinsky, J., Davies, N.M., Swanson, S.A., *et al.* (2021) Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology Using Mendelian Randomization: The STROBE-MR Statement. *JAMA*, **326**, 1614-1621. <https://doi.org/10.1001/jama.2021.18236>
- [8] Dudbridge, F. (2020) Polygenic Mendelian Randomization. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, **11**, a039586. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a039586>
- [9] Antoni, S., Ferlay, J., Soerjomataram, I., Znaor, A., Jemal, A. and Bray, F. (2017) Bladder Cancer Incidence and Mortality: A Global Overview and Recent Trends. *European Urology*, **71**, 96-108. <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2016.06.010>
- [10] Pigeyre, M., Sjaarda, J., Chong, M., Hess, S., Bosch, J., Yusuf, S., *et al.* (2020) ACE and Type 2 Diabetes Risk: A Mendelian Randomization Study. *Diabetes Care*, **43**, 835-842. <https://doi.org/10.2337/dc19-1973>
- [11] Burgess, S., Butterworth, A. and Thompson, S.G. (2013) Mendelian Randomization Analysis with Multiple Genetic Variants Using Summarized Data. *Genetic Epidemiology*, **37**, 658-665. <https://doi.org/10.1002/gepi.21758>
- [12] Zhao, J., Ming, J., Hu, X., Chen, G., Liu, J. and Yang, C. (2019) Bayesian Weighted Mendelian Randomization for Causal Inference Based on Summary Statistics. *Bioinformatics*, **36**, 1501-1508. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btz749>
- [13] Burgess, S. and Thompson, S.G. (2017) Interpreting Findings from Mendelian Randomization Using the MR-Egger Method. *European Journal of Epidemiology*, **32**, 377-389. <https://doi.org/10.1007/s10654-017-0255-x>
- [14] Burgess, S. and Thompson, S.G. (2015) Multivariable Mendelian Randomization: The Use of Pleiotropic Genetic Variants to Estimate Causal Effects. *American Journal of Epidemiology*, **181**, 251-260. <https://doi.org/10.1093/aje/kwu283>
- [15] Du, Y., Wang, Q., Zhang, X., Wang, X., Qin, C., Sheng, Z., *et al.* (2017) Lysophosphatidylcholine Acyltransferase 1 Upregulation and Concomitant Phospholipid Alterations in Clear Cell Renal Cell Carcinoma. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, **36**, Article No. 66. <https://doi.org/10.1186/s13046-017-0525-1>
- [16] Hannun, Y.A. and Obeid, L.M. (2017) Sphingolipids and Their Metabolism in Physiology and Disease. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, **19**, 175-191. <https://doi.org/10.1038/nrm.2017.107>
- [17] Rao, H., Liu, C., Wang, A., Ma, C., Xu, Y., Ye, T., *et al.* (2023) SETD2 Deficiency Accelerates Sphingomyelin Accumulation and Promotes the Development of Renal Cancer. *Nature Communications*, **14**, Article No. 7572. <https://doi.org/10.1038/s41467-023-43378-w>
- [18] Yue, D. and Tian, J. (2023) Serum Uric Acid and Triglycerides in Clear Cell Renal Cell Carcinoma: A Restrospective Cross-Sectional Study. *Medicine*, **102**, e34645. <https://doi.org/10.1097/md.0000000000003465>
- [19] Klymkowsky, M.W. and Savagner, P. (2009) Epithelial-Mesenchymal Transition: A Cancer Researcher's Conceptual Friend and Foe. *The American Journal of Pathology*, **174**, 1588-1593. <https://doi.org/10.2353/ajpath.2009.080545>
- [20] Li, W., Wang, X., Zhang, X., Gong, P., Ding, D., Wang, N., *et al.* (2021) Revealing Potential Lipid Biomarkers in Clear Cell Renal Cell Carcinoma Using Targeted Quantitative Lipidomics. *Lipids in Health and Disease*, **20**, Article No. 160. <https://doi.org/10.1186/s12944-021-01572-z>