

· 论 著 ·

克罗恩病与衰弱的双向孟德尔随机化研究

高亚南¹, 徐涯鑫², 朱宇倩², 徐军², 姚亭¹, 陈亚梅³

1.安徽中医药大学护理学院,安徽合肥 230012; 2.同济大学,上海 200092; 3.同济大学附属第十人民医院,上海 200072

摘要: **目的** 采用孟德尔随机化(MR)研究方法分析克罗恩病(CD)与衰弱的因果关系,为制定相应的防治策略提供依据。**方法** CD的遗传关联数据来自国际炎症性肠病遗传学联盟,包括20 883人,收集单核苷酸多态性位点(SNP)12 276 506个;衰弱的遗传关联数据来自一项包括175 226人的Meta分析,收集SNP 7 589 717个。采用逆方差加权法(IVW),以CD相关的37个SNP为工具变量,衰弱为研究结局进行正向MR分析;以衰弱相关的13个SNP为工具变量,CD为研究结局进行反向MR分析;采用Cochran Q检验评估异质性,采用MR-PRESSO检验和MR-Egger回归法检验水平多效性,采用留一法检验结果的稳健性。**结果** 正向MR分析结果显示,与未患CD者相比,遗传学预测的CD患者的衰弱风险升高($\beta=0.018$, 95%CI: 0.011~0.026, $P<0.05$);Cochran Q检验显示不存在异质性($P>0.05$),MR-PRESSO检验和MR-Egger回归法均未发现工具变量的水平多效性(均 $P>0.05$)。逐个剔除SNP后,MR分析结果稳健。反向MR分析未观察到衰弱与患CD之间的关联($OR=0.740$, 95%CI: 0.206~2.661, $P>0.05$)。**结论** 遗传学预测的CD与衰弱有关,提示应加强CD患者衰弱相关的筛查和预防。

关键词: 克罗恩病;衰弱;孟德尔随机化;因果推断

中图分类号: R574 文献标识码: A 文章编号: 2096-5087(2023)11-0943-05

Association between Crohn's disease and frailty: a bidirectional Mendelian randomization study

GAO Yanan¹, XU Yaxin², ZHU Yuqian², XU Jun², YAO Ting¹, CHEN Yamei³

1.School of Nursing, Anhui University of Chinese Medicine, Hefei, Anhui 230012, China; 2.Tongji University, Shanghai 200092, China; 3.Tenth People's Hospital Affiliated to Tongji University, Shanghai 200072, China

Abstract: Objective To evaluate the association between Crohn's disease (CD) and frailty using a Mendelian randomization (MR) approach, so as to provide the evidence for prevention and control strategies. **Methods** Genetic association data for CD were collected through the International Inflammatory Bowel Disease Genetics Consortium, with 20 883 samples and 12 276 506 single nucleotide polymorphism (SNP), and genetic association data for frailty were collected through a meta-analysis including 175 226 samples and 7 589 717 SNPs. A forward MR analysis was performed using the inverse-variance weighted (IVW) method with 37 CD-associated SNPs as instrumental variables, and frailty as the study outcome, and a reverse MR analysis was performed with 13 frailty-associated SNPs as instrumental variables and CD as the study outcome. The heterogeneity was assessed using the Cochran's Q test, and the horizontal pleiotropy was assessed using the MR-PRESSO global test and MR-Egger regression. In addition, the robustness of the results was verified with the leave-one-out. **Results** Forward MR analysis results showed that patients with genetically predicted CD had an increased risk of frailty index relative to those without CD ($\beta=0.018$, 95%CI: 0.011-0.026, $P<0.05$). Cochran's Q test detected no heterogeneity ($P>0.05$), and neither the MR-PRESSO test nor the MR-Egger regression revealed horizontal pleiotropy of instrumental variables (both $P>0.05$). Leave-one-out analysis showed robustness of the MR analysis results. Reverse MR analysis showed no association between frailty index and the risk of CD ($OR=0.740$, 95%CI: 0.206-

DOI: 10.19485/j.cnki.issn2096-5087.2023.11.006

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(72274135)

作者简介: 高亚南, 硕士研究生在读

通信作者: 陈亚梅, E-mail: yezi807@163.com

2.661, $P>0.05$). **Conclusions** Genetically predicted CD is associated with an increased risk of frailty. It is suggested that screening and prevention of frailty should be reinforced among CD patients.

Keywords: Crohn's disease; frailty; Mendelian randomization; causal inference

衰弱指因生理储备不断下降和(或)健康缺陷不断累积而出现的抗应激能力减退的非特异性状态,可增加患者跌倒、住院及死亡风险^[1]。克罗恩病(Crohn's disease, CD)是炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)的主要亚型之一,是一种病因未明的慢性非特异性炎症性疾病,发病机制被认为是遗传易感性、环境因素和肠道微生物群改变相互作用,导致先天性和适应性免疫反应失调^[2]。既往队列研究为CD与衰弱的因果关联提供了依据^[3-5],但同时受到年龄、病程、疾病活动性等混杂因素的影响,可能导致因果推断不准确^[6]。此外,传统观察性研究样本量有限,且易受到各种混杂因素和反向因果的影响,在因果推断上存在一定的局限性。孟德尔随机化(Mendelian randomization, MR)能有效避免混杂因素和反向因果的影响,为流行病学中的因果推断提供了新的思路^[7]。本研究旨在采用双向MR方法分析CD与衰弱之间的因果关系,以便早期识别CD合并衰弱患者并制定相应防治策略。

1 资料与方法

1.1 资料来源

CD的遗传关联数据来自国际IBD遗传学联盟,包含20 883人(5 956例CD病例和14 927名对照);发现疾病相关基因座38个,其中25个与之前的性状重叠,另外13个基因座与任何疾病或性状无关;共鉴定12 276 506个单核苷酸多态性位点(single nucleotide polymorphism, SNP)^[8]。衰弱的遗传关联数据来自一项包括175 226人(164 610名英国人和10 616名瑞典人)的全基因组关联研究(genome-wide association study, GWAS)的Meta分析。该研究根据躯体、功能、心理及社会等多维度的49个自我报告项目计算衰弱指数,共鉴定7 589 717个SNP^[9]。

1.2 方法

1.2.1 设计原理

MR以与暴露因素具有强相关的遗传变异作为工具变量,推断暴露与结局之间的因果关系,这些工具变量需满足3个核心假设:(1)遗传变异与暴露具有强相关性;(2)遗传变异与暴露-结果关联的混杂因素无关;(3)遗传变异只能通过暴露对结局造成影

响,而不能通过其他途径^[7]。筛选存在强相关的SNP作为工具变量以验证假设(1)。MR研究遵循“在减数分裂时亲代等位基因随机分配给子代”的遗传规律,遗传变异的效应较少受到后天的环境、社会经济地位等混杂因素的影响,满足假设(2)。当工具变量通过“遗传变异-暴露因素-结局”以外的其他途径影响结局发生时,认为该遗传变异具有多效性,因此通过检验SNP的多效性以验证假设(3)。

1.2.2 工具变量的选择

首先,以 $P<5\times 10^{-8}$ 进行工具变量的提取,同时以 $r^2=0.001$, kb=10 000进行连锁不平衡处理,确保工具变量满足独立性^[7]。随后将与暴露具有强相关的SNP作为工具变量与结局数据进行整合,删除与混杂因素相关的SNP,保留适当的SNP,使暴露和结局的效应值对应同一效应等位基因,并提取每个SNP位点的rs编号、染色体、染色体上突变位点的位置、效应等位基因、非效应等位基因和效应等位基因频率等。在协调暴露和结局的数据后,去除具有中间等位基因频率的回文SNP。最后,通过计算F值评估工具变量的强度,以 $F<10$ 作为判定弱工具变量的标准,防止结果带来偏倚。 $F=\beta^2/SE^2$ ^[7], β 表示SNP对暴露因素的效应值,SE表示 β 的标准误。最终确定13个SNP纳入反向MR研究,37个SNP纳入正向MR研究。

1.2.3 双向MR研究设计

CD与衰弱关联的正向MR分析以CD相关的37个SNP为工具变量,以衰弱为研究结局;反向MR分析以衰弱相关的13个SNP为工具变量,以CD为研究结局。采用逆方差加权法(inverse variance weighted, IVW)、MR-Egger回归法、加权中位数法(weighted median, WME)、简单众数法(simple mode, SM)和加权众数法(weighted mode, WM)分析CD与衰弱的因果关联。IVW不要求考虑截距项,以各工具变量方差倒数为权重进行拟合。在保证所有工具变量均有效,且不存在多效性的前提下,对SNP用比值法逐一测算并加权回归,得到总体估计值^[10]。MR-Egger法与IVW法的主要区别是回归时考虑截距项的存在,同时也使用结局方差的倒数作为权重进行拟合^[11]。WME法进行加权权重计算要求有效工具变量超过50%。按权重大小排列SNP后,取

中位数为结果，该方法得到的因果估计值一致性较好。SM 和 WM 是基于众数的估计模型，使具有相似因果效应的 SNP 聚集，并返回大多数聚类 SNP 的因果效应估计。

1.2.4 敏感性分析

采用 MR-Egger 法、Cochran Q 检验、MR-PRESSO 检验和留一法检验结果稳健性。MR-Egger 法的截距项若与 0 之间相差较大，则表示工具变量间可能存在水平多效性^[11]。Cochran Q 检验用于评估各个工具变量之间的差异，差异越大，异质性越强。MR-PRESSO 检验是否存在离群值，并通过去除离群值以校正水平多效性^[11]。留一法通过逐一剔除单个 SNP 并评估剩余 SNP 所产生的合并效应，以检验单个 SNP 是否对因果效应造成影响^[12]。

1.3 统计分析

采用 R 4.3.0 软件的 TwoSampleMR 0.5.7 和 MR-PRESSO 1.0 程序包分析，检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 CD 与衰弱关联的正向 MR 分析结果

正向 MR 分析结果显示，与未患 CD 者相比，遗传学预测的 CD 患者的衰弱风险升高，见表 1、图 1。Cochran Q 检验表明，纳入的 SNP 中未发现显著异质性 ($Q=45.492, P=0.133$)；且 MR-Egger ($P=0.732$) 和 MR-PRESSO 检验 ($P=0.170$) 显示不存在水平多效性或离群值。留一法显示 CD 对衰弱的效应不受单个 SNP 的影响，见图 2。漏斗图显示 SNP 基本对称分布在 IVW 线两侧，见图 3。

表 1 CD 与衰弱关联的 MR 分析结果

Table 1 MR analysis results of association between CD and frailty

暴露	结局	SNP	分析方法	β	95%CI	P 值	多效性检验 P 值	异质性检验 P 值
CD	衰弱	37	IVW	0.018	0.011 ~ 0.026	<0.001	0.732	0.133
			MR-Egger	0.013	-0.012 ~ 0.040	0.304		
			WME	0.015	0.005 ~ 0.024	0.003		
			SM	0.011	-0.193 ~ 0.032	0.282		
			WM	0.011	-0.004 ~ 0.027	0.162		

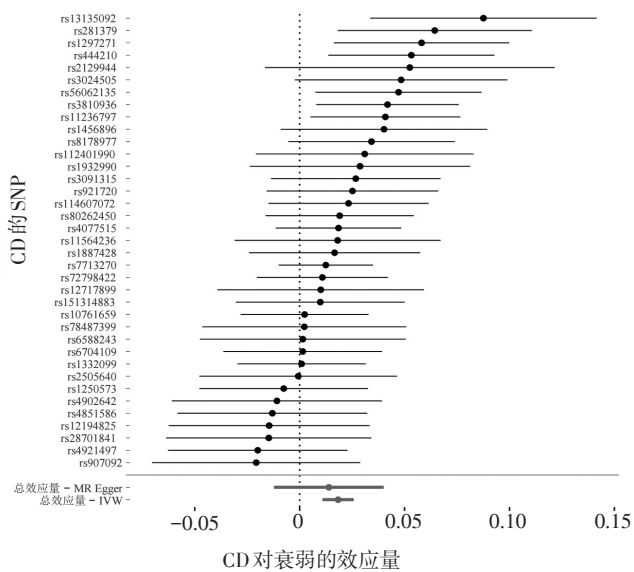


图 1 CD 与衰弱的 MR 分析森林图

Figure 1 Forest plot for MR analysis of association between CD and frailty

2.2 CD 与衰弱关联的反向 MR 分析结果

反向 MR 分析结果显示，本研究未观察到衰弱与 CD 存在统计学关联。见表 2。多效性检验显示无明显多效性 (MR-Egger 截距=-0.143, $P=0.321$)。

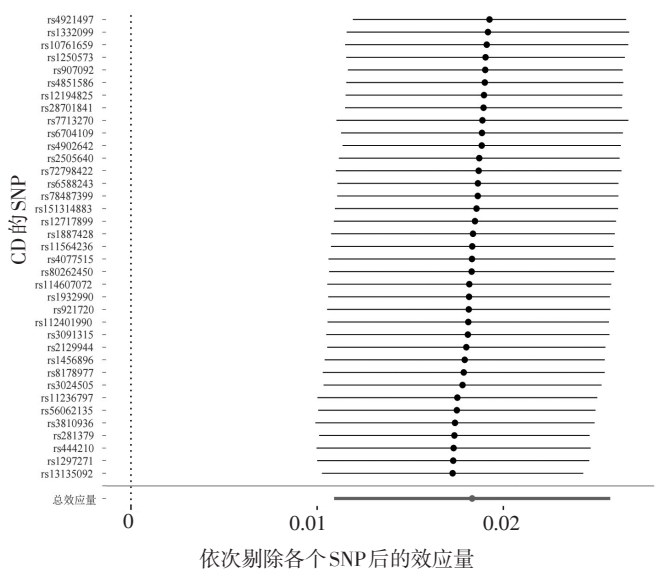


图 2 CD 与衰弱的 MR 分析留一法敏感性分析

Figure 2 Leave-one-out sensitivity analysis for MR analysis of association between CD and frailty

3 讨论

本研究通过双向 MR 分析发现 CD 与衰弱风险存在正向关联，与此前的观察性研究结论一致。一项

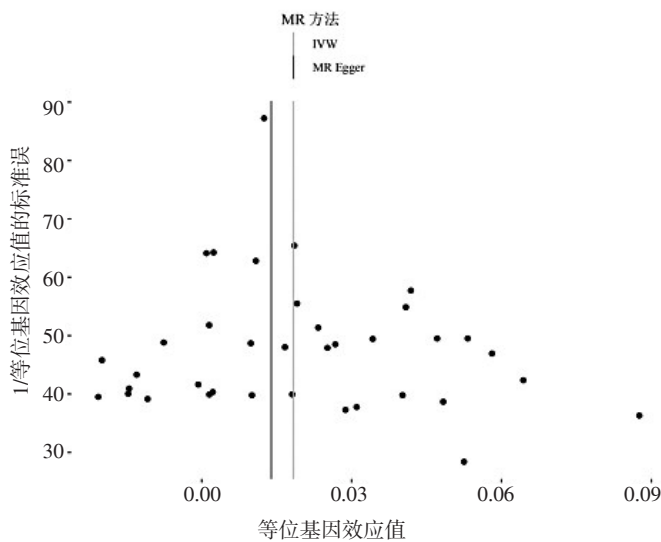


图3 CD与衰弱的MR分析漏斗图

Figure 3 Funnel plot for MR analysis of association between CD and frailty

来自瑞典的样本量为 113 988 人的全国回顾性队列研究表明, 随访 1 年后 IBD 患者与对照组的衰弱发生率分别为 61% 和 27% [3]。另一项国内某大型三甲医院的横断面调查结果显示, CD 患者更容易发生衰弱, 建议关注以衰弱预防为重点的综合管理以改善患者整体预后 [4]。

目前, 老年 IBD 患者数增长较快 [13], 间接增加了 CD 患者衰弱的发生风险。虽然 CD 导致衰弱的具体机制尚不清楚, 但可能与 CD 相关长期慢性炎症和缺乏身体活动所致的胰岛素抵抗、肌肉合成代谢抵抗和促炎特性相关 [14]。

CD 患者的肠上皮细胞、树突状细胞和巨噬细胞暴露于刺激因素, 导致炎性细胞因子增加, 尤其是肿瘤坏死因子- α 、白介素 (interleukin, IL) -6、IL-1、IL-18、IL-12 和 IL-23 [15]。促炎细胞因子致使衰老相关分泌表型因子 (senescence-associated se-

表2 衰弱与CD关联的MR分析结果

Table 2 MR analysis results of association between frailty and CD

暴露	结局	SNP	分析方法	OR值	95%CI	P值	多效性检验P值	异质性检验P值
衰弱	CD	13	IVW	0.740	0.206 ~ 2.661	0.644	0.321	0.086
			MR-Egger	827.300	0.001 ~ 4.944 $\times 10^8$	0.343		
			WME	2.189	0.764 ~ 6.274	0.145		
			SM	3.290	0.427 ~ 2.534	0.275		
			WM	3.290	0.493 ~ 2.194	0.242		

cretory phenotype, SASP) 分泌增加 [16]。衰老的细胞仍具有旺盛的代谢分泌活性, 可以分泌大量的可溶性信号分子、蛋白酶及不可溶性分泌性蛋白质等生物活性物质, 即 SASP [17]。SASP 通过诱导邻近细胞的变化和衰老加速生物体衰老, 从而传播衰老表型 [16], 促进 CD 患者衰弱的发生。

最近一项研究表明, CD 患者的胃肠道干细胞和柱状细胞中细胞衰老标志物 p16 和 p21 的表达增加 [18]。其他研究报道了类似结果, 生物老化的标志物端粒缩短和 DNA 损伤反应途径的表达在 IBD 患者的某些细胞系中上调 [16]。

本研究未观察到衰弱与 CD 之间可能的因果效应。既往有研究指出衰弱患者存在特定的生理基础, 其部分特征是较高水平的氧化应激、循环炎性细胞因子和潜在上调的 IL-6, 在 CD 患者的发病机制中可能起作用 [14]。但本研究未得出相似的结果, 可能与纳入的 SNP 数量较少有关。

本研究也存在一定不足。首先, 本研究采用 GWAS 研究的汇总数据, 无法评估暴露因素与结局

变量间的非线性关系, 而且由于数据的局限性, 无法根据 CD 肠道主要受累部位、发病年龄和性别等开展亚组分析。其次, 本研究纳入对象为欧洲人群, 研究结果在其他人群中的推广受限。最后, MR 对 CD 与衰弱发生风险的因果关系只能作出初步推断, 潜在的生物学机制尚不完全清楚。因此, 未来还需要更多的研究来探寻二者之间可能存在的介导通路, 为衰弱的防治和 CD 预后管理提供新的见解。

参考文献

[1] HOOGENDIJK E O, AFILALO J, ENSRUD K E, et al. Frailty: implications for clinical practice and public health [J]. Lancet, 2019, 394 (10206): 1365-1375.
 [2] 中华医学会消化病学分会炎症性肠病学组. 炎症性肠病诊断与治疗的共识意见 (2018 年, 北京) [J]. 中华消化杂志, 2018, 38 (5): 292-311.
 [3] QIAN A S, NGUYEN N H, ELIA J, et al. Frailty is independently associated with mortality and readmission in hospitalized patients with inflammatory bowel diseases [J]. Clin Gastroenterol Hepatol, 2021, 19 (10): 2054-2063.
 [4] YOU L, BAI C, WANG S, et al. The prevalence and factors that

- impact frailty in inflammatory bowel disease patients hospitalized in a tertiary hospital in China [J]. *Dig Dis*, 2023, 41 (3): 396-404.
- [5] WOLF J H, HASSAB T, D'ADAMO C R, et al. Frailty is a stronger predictor than age for postoperative morbidity in Crohn's disease [J]. *Surgery*, 2021, 170 (4): 1061-1065.
- [6] SINGH S, BOLAND B S, JESS T, et al. Management of inflammatory bowel diseases in older adults [J]. *Lancet Gastroenterol Hepatol*, 2023, 8 (4): 368-382.
- [7] EMDIN C A, KHERA A V, KATHIRESAN S. Mendelian randomization [J]. *JAMA*, 2017, 318 (19): 1925-1926.
- [8] LIU J Z, VAN S S, HUANG H, et al. Association analyses identify 38 susceptibility loci for inflammatory bowel disease and highlight shared genetic risk across populations [J]. *Nat Genet*, 2015, 47 (9): 979-986.
- [9] ATKINS J L, JYLHAVA J, PEDERSEN N L, et al. A genome-wide association study of the frailty index highlights brain pathways in ageing [J/OL]. *Aging Cell*, 2021, 20 (9) [2023-10-23]. <https://doi.org/10.1111/acer.13459>.
- [10] 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.
- [11] BURGESS S, THOMPSON S G. Interpreting findings from mendelian randomization using the MR-Egger method [J]. *Eur J Epidemiol*, 2017, 32 (5): 377-389.
- [12] YANG S, PUDASAINI R, ZHI H, et al. The relationship between blood lipids and risk of atrial fibrillation: univariable and multivariable Mendelian randomization analysis [J]. *Nutrients*, 2021, 14 (1): 1-10.
- [13] SINGH S, BOLAND B S, JESS T, et al. Management of inflammatory bowel diseases in older adults [J]. *Lancet Gastroenterol Hepatol*, 2023, 8 (4): 368-382.
- [14] TAYLOR J A, GREENHAFF P L, BARTLETT D B, et al. Multi-system physiological perspective of human frailty and its modulation by physical activity [J]. *Physiol Rev*, 2023, 103 (2): 1137-1191.
- [15] 侯晓婷, 孟欢, 薛佳辰, 等. 关于炎症性肠病发病机制的研究进展 [J]. *中国比较医学杂志*, 2023, 33 (9): 138-148.
- [16] HOPKIN S, LORD J M, CHIMEN M. Dysregulation of leukocyte trafficking in ageing: causal factors and possible corrective therapies [J/OL]. *Pharmacol Res*, 2021, 163 [2023-10-23]. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2020.105323>.
- [17] 王凌, 尤鸿美, 潘雪银, 等. 老年性疾病通过 cGAS-STING 通路调控衰老相关分泌表型 [J]. *中国药理学通报*, 2021, 37 (4): 450-454.
- [18] WANG X, BOOTSMA H, KROESE F, et al. Senescent stem and transient amplifying cells in Crohn's disease intestine [J/OL]. *Inflamm Bowel Dis*, 2020, 26 (2) [2023-10-23]. <https://doi.org/10.1093/ibd/izz295>.
- 收稿日期: 2023-07-17 修回日期: 2023-10-23 本文编辑: 刘婧出

(上接第942页)

- [12] GAO K, CAO L F, MA W Z, et al. Association between sarcopenia and cardiovascular disease among middle-aged and older adults: findings from the China health and retirement longitudinal study [J]. *EclinicalMedicine*, 2022, 44: 1-11.
- [13] 王俊苹, 卢肇骏, 寇硕, 等. 基于 CHARLS 的中国老年人体质指数与死亡风险研究 [J]. *预防医学*, 2022, 34 (4): 346-349.
- [14] WANNAMETHEE S G, ATKINS J L. Muscle loss and obesity: the health implications of sarcopenia and sarcopenic obesity [J]. *Proc Nutr Soc*, 2015, 74 (4): 405-412.
- [15] ZAMBONI M, RUBELE S, ROSSI A P. Sarcopenia and obesity [J]. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 2019, 22 (1): 13-19.
- 收稿日期: 2023-07-13 修回日期: 2023-10-19 本文编辑: 徐文璐