

白细胞端粒长度与白内障的双向孟德尔随机化研究

陈蓉¹, 莫口妈妮², 柯晓鸿³, 王楚怀¹

1. 中山大学附属第一医院康复医学科, 广东 广州 510030; 2. 乐山市市中区人民医院, 四川 乐山 614000;
3. 中山大学, 广东 广州 510030

摘要: **目的** 采用双向孟德尔随机化 (MR) 方法分析白细胞端粒长度与白内障的因果关系, 为白内障早期诊断和防治提供依据。**方法** 白细胞端粒长度资料来源于全基因组关联研究 (GWAS) 的 Meta 分析 (78 952 人), 白内障 GWAS 资料来源于英国生物银行 (8 890 例病例和 454 120 名对照)。选择与白细胞端粒长度显著相关的单核苷酸多态性位点为工具变量, 采用逆方差加权法进行双向 MR 分析。采用 Cochran Q 检验评估异质性; 采用 MR-Egger 回归法检验水平多效性; 采用留一法和 MR-PRESSO 检验去除离群值。**结果** 正向 MR 分析结果显示, 白细胞端粒长度缩短与白内障风险增加有关 ($OR=0.991$, $95\%CI: 0.990 \sim 0.997$); 反向 MR 分析结果显示白内障风险与白细胞端粒长度不存在统计学关联 ($P>0.05$)。敏感性分析未发现存在异质性、水平多效性和离群值, MR 分析结果稳健 (均 $P>0.05$)。**结论** 较短的白细胞端粒长度可能与白内障风险增加有关。

关键词: 端粒长度; 白内障; 孟德尔随机化; 全基因组关联研究

中图分类号: R776.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 2096-5087 (2024) 07-0580-04

Association between leukocyte telomere length and cataracts: a bidirectional Mendelian randomization study

CHEN Rong¹, Mokoumani², KE Xiaohong³, WANG Chuhuai¹

1. Department of Rehabilitation Medicine, the First Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University, Guangzhou, Guangdong 510030, China; 2. The People's Hospital of Leshan Shizhong District, Leshan, Sichuan 614000, China;
3. Sun Yat-sen University, Guangzhou, Guangdong 510030, China

Abstract: Objective To examine the association between leukocyte telomere length and cataract using bidirectional Mendelian randomization (MR) approach, so as to provide the basis for early diagnosis and prevention of cataracts. **Methods** Leukocyte telomere length data were collected through a meta analysis of genome-wide association studies (GWAS), including 78 952 participants, and the GWAS data of cataract were collected through the UK Biobank, including 8 890 cases and 454 120 controls. A bidirectional MR analysis was performed using the inverse-variance weighted (IVW) method, and single nucleotide polymorphisms (SNPs) which were associated with leukocyte telomere length were selected as instrumental variables. The heterogeneity was assessed using the Cochran's Q test, the horizontal pleiotropy was assessed using the MR-Egger regression and the outlier was verified with the leave-one-out and MR-PRESSO test. **Results** Forward MR analysis results showed that shortened leukocyte telomere length had an increased risk of cataract ($OR=0.991$, $95\%CI: 0.990-0.997$). Reverse MR analysis results showed no statistically significant association between leukocyte telomere length and cataract ($P>0.05$). Cochran's Q test detected no heterogeneity, and neither the MR-Egger re-

DOI: 10.19485/j.cnki.issn2096-5087.2024.07.007

基金项目: 国家重点研发计划项目 (2022YFC2009700); 粤港科技创新联合资助项目 (2023A0505010014); 国家自然科学基金项目 (82172532)

作者简介: 陈蓉, 博士研究生在读, 康复医学与理疗学专业

通信作者: 王楚怀, E-mail: wangchuh@mail.sysu.edu.cn

gression nor the MR-PRESSO test revealed horizontal pleiotropy of instrumental variables (both $P>0.05$). Leave-one-out analysis showed robustness of the MR analysis results. **Conclusion** Shorter leukocyte telomere length might be associated with increased risk of cataract.

Keywords: telomere length; cataract; Mendelian randomization; genome-wide association study

白内障是老年人视力受损的主要原因之一，由遗传因素、年龄增长、紫外线暴露、糖尿病、吸烟和饮酒等多种因素引起^[1-2]。其中，遗传不稳定性，尤其是DNA损伤，与白内障病情恶化密切相关^[3]。端粒长度的变化被认为是细胞衰老和遗传稳定性的一个重要标志，外周血白细胞端粒长度是评估衰老的标志物^[4]。有研究发现老年人的白细胞端粒长度与晶状体透明度呈正相关，白内障患者晶状体上皮的端粒长度与晶状体密度呈负相关，提示端粒长度与白内障的发生发展可能存在关联^[5-6]。但是上述研究的受试者较少，观察效应不强，且受限于病例对照研究中的混杂因素和反向因果等干扰，难以判断端粒长度与白内障的因果关系。本研究利用与白细胞端粒长度相关的全基因组关联研究 (genome-wide association study, GWAS) 汇总数据，采用双向孟德尔随机化 (Mendelian randomization, MR) 方法探究白细胞端粒长度与白内障的关联，为白内障早期诊断和防治提供依据。

1 资料与方法

1.1 资料来源

白细胞端粒长度数据来自一项 GWAS Meta 分析^[7]，包括 78 592 名研究对象和 20 134 421 个 SNP，由欧洲遗传和基因组流行病学网络、欧洲癌症与营养前瞻性调查和心血管疾病的 InterAct 研究共同发布。白内障 GWAS 数据来自英国生物银行 (<http://www.nealelab.is/uk-biobank>)，包含 8 890 例白内障病例和 454 120 名对照，共计 9 851 867 个 SNP。根据《疾病和有关健康问题的国际统计分类 (第十次修订本)》(ICD-10)，白内障包括老年性白内障 (H25)、先天性白内障 (H26)、药物性白内障 (H27) 和其他特定类型白内障 (H28)。查询数据来源证实，暴露与结局之间不存在样本重叠，结果具有可信性。所有数据均为公开数据库中开放获取，其原始数据已通过对应的伦理委员会审核允许公开使用。

1.2 方法

端粒长度表型作为暴露变量，白内障作为结局变量，评估两者的因果关系。MR 分析中的遗传变异需要满足 3 个关键假设：(1) 相关性，用作工具变量

的遗传变异与暴露因素显著相关；(2) 独立性，作为工具变量使用的遗传变异与任何可能影响研究结局的混杂因素无关；(3) 排他性，用作工具变量的遗传变异仅通过暴露影响结局，而不通过任何其他途径影响结局^[8]。在设计、实施和报告 MR 分析时，严格遵循 STROBE-MR 指南^[9] 的建议，保障研究结论的可靠性。

1.2.1 工具变量的选取

为了满足相关性假设，根据全基因组显著水平 $P<5\times 10^{-8}$ 、排除连锁不平衡的工具变量，设置参数为 $r^2=0.001$ 、 $kb=10\ 000$ ；为了满足独立性假设，在 $P<5\times 10^{-5}$ 水平上去除与白内障相关的 SNP、回文和不兼容的 SNP；为了满足排他性假设，通过 PhenoScanner 网站 (<http://www.phenoscaner.medschl.cam.ac.uk>) 检查 SNP 是否与白内障的危险因素相关，相关性阈值设置为 $P<5\times 10^{-8}$ 。纳入的危险因素包括体质指数 (BMI) 升高、2 型糖尿病、高血压、喝咖啡、饮酒、吸烟，以及与老年性白内障易感性有关的 KCNAB1 和 CRYAA 基因^[10-13]，在初步纳入的 SNP 中去除与上述混杂因素有关的 SNP。为进一步减少弱工具变量偏移，计算每个 SNP 的 F 统计量，剔除 $F<10$ 的 SNP^[14]，最终纳入 13 个 SNP 作为正向 MR 分析的工具变量。反向 MR 分析设置参数同上，最终纳入 7 个 SNP 作为反向 MR 分析的工具变量。

1.2.2 MR 分析

逆方差加权法 (inverse-variance weighted, IVW) 能提供相对稳定和准确的因果关系，作为 MR 分析的主要方法，其原理是利用比值法计算单个 IV 的因果关系估计值，并将每个估计值结合后进行加权线性回归，得到总估计值^[15]。为增强研究结果的稳健性和可靠性，本研究还采用了 MR-Egger 回归、加权中位数 (weighted median, WME) 和加权众数 (weighted mode, WM) 3 种 MR 分析方法^[16-18]。MR-Egger 回归法通过在逆方差加权中引入截距项来检测多效性并允许工具变量存在一定程度的无效性，因此，当工具变量可能存在多效性或工具变量不完全有效时，MR-Egger 回归法可以检测和调整偏差，但其对于工具变量的强度有较高的要求，存在弱工具变量时可能不稳定。WME 法计算所有工具变量效应估计的加权中位数，优势在于即使一半的工具变量是无效的，

也能提供一个正确的因果估计。WM法可以识别并赋予最常见的因果效应估计（即模态估计）更高的权重，在工具变量存在多效性和无效工具变量时具有较高的抵抗力。

1.2.3 敏感性分析

采用MR-Egger回归法的截距评估结果的水平多效性， $P < 0.05$ 表示存在多效性。采用Cochran Q检验评估每个SNP之间的异质性， $P > 0.05$ 表示无异质性，并通过漏斗图检验结果偏倚。采用留一法评估单个SNP对因果关联的潜在影响程度，如果存在明显效应偏移的SNP则需去除后再分析。采用MR-PRESSO检验工具变量异常值，剔除检测到的异常离群值以提供无偏倚的因果估计^[19]。

1.3 统计分析

采用R 4.2.1软件和TwoSampleMR 0.5.6软件包统计分析，检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 白细胞端粒长度与白内障的双向MR分析结果

所有纳入SNP的F值在30.051~233.651之间，均 > 10 ，结果不会受到弱工具变量影响。正向MR分析中，IVW法分析发现，随着白细胞端粒长度的缩短，白内障风险增加（ $P < 0.05$ ）。MR-Egger回归、WME、WM的结果均与IVW法相似，且总效应值的方向一致，研究结果稳健。反向MR分析结果未发现白细胞端粒长度与白内障存在因果关系（ $P > 0.05$ ）。见表1。

表1 白细胞端粒长度与白内障的双向MR分析结果

Table 1 Results of the bidirectional MR analysis of leukocyte telomere length and cataracts

暴露	结局	方法	OR值 (95%CI)	P值	Cochran Q 检验P值	MR-Egger 检验P值	MR-PRESSO 检验P值
白细胞端粒长度	白内障	IVW	0.991 (0.990~0.997)	0.020	0.132	0.674	0.061
		MR-Egger	0.972 (0.971~1.015)	0.261	0.120		
		WME	0.911 (0.909~1.009)	0.122			
		WM	0.954 (0.919~1.006)	0.223			
白内障	白细胞端粒长度	IVW	0.642 (0.295~1.401)	0.266	0.453	0.608	0.307
		MR-Egger	0.331 (0.027~3.960)	0.431	0.358		
		WME	0.669 (0.244~1.831)	0.433			
		WM	0.350 (0.072~1.682)	0.246			

2.2 敏感性分析

Cochran Q检验显示SNP间不存在异质性（ $P=0.120$ ），采用固定效应模型。MR-Egger回归法的截距显示不存在水平多效性，MR-PRESSO检验未发现离群值（均 $P > 0.05$ ），见表1。留一法结果显示，去除任何一个SNP都不会显著影响因果关联的估计，提示MR分析结果稳健。漏斗图呈现的工具变量分布具有基本对称性，未见明显偏倚。

3 讨论

本研究采用双向MR方法对白细胞端粒长度的GWAS数据和白内障GWAS数据进行分析，发现端粒缩短可能增加白内障发生风险，与现有的研究结论^[5-6]一致，而白内障对端粒长度无明显影响。

白内障是一种与衰老密切相关的疾病。研究发现，白内障的发生发展与氧化应激、人晶状体上皮细胞老化有关，而端粒长度也在抗氧化应激和防止细胞

老化方面具有关键作用^[20-21]。氧化应激可能通过加快端粒缩短，促进人晶状体上皮细胞衰老，导致白内障^[22]。BAINS等^[23]研究表明，电离辐射可能通过影响端粒长度和端粒酶活性，增加白内障风险，进一步强调了端粒长度和氧化应激的遗传变异在白内障发病中的潜在作用，也提示一些不良的环境因素可能通过影响端粒的维护机制增加白内障风险。端粒长度在白内障的发生发展中扮演了重要角色，并推测避免端粒缩短和氧化应激的发生可能成为防治白内障的新策略。外周血细胞采集相对容易，建议在白内障的早期筛查中重视白细胞端粒长度检查，以便早期干预，改善患者预后。

综上所述，本研究表明有较短白细胞端粒长度遗传倾向的人群患白内障的风险可能增加，并建议端粒长度作为血液学指标用于白内障早期筛查和监测。本研究也有局限性。首先，GWAS数据均来源于欧洲人群，因此不确定该结果是否适用于其他人群。其

次, 测量人晶状体上皮细胞端粒长度的难度较大, 采用白细胞端粒长度作为代表虽被广泛接受, 但仍有必要进一步探索。最后, MR 分析无法探究端粒长度和白内障之间的直接生物学机制, 还需要分子生物学研究确定两者的相互作用机制。

参考文献

- [1] LIU Y C, WILKINS M, KIM T, et al. Cataracts [J]. *Lancet*, 2017, 390 (10094): 600–612.
- [2] 王倩倩, 章涛, 李傅冬, 等. 老年人群白内障的影响因素分析 [J]. *预防医学*, 2023, 35 (4): 311–315.
- [3] ZHU X J, LI D, DU Y, et al. DNA hypermethylation-mediated downregulation of antioxidant genes contributes to the early onset of cataracts in highly myopic eyes [J]. *Redox Biol*, 2018, 19: 179–189.
- [4] CHAKRAVARTI D, LABELLA K A, DEPINHO R A. Telomeres: history, health, and hallmarks of aging [J]. *Cell*, 2021, 184 (2): 306–322.
- [5] SANDERS J L, IANNACONE A, BOUDREAU R M, et al. The association of cataract with leukocyte telomere length in older adults: defining a new marker of aging [J]. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 2011, 66 (6): 639–645.
- [6] WANG Y H, LIU Z Y, HUANG C, et al. Analysis of lens epithelium telomere length in age-related cataract [J/OL]. *Exp Eye Res*, 2020, 201 [2024-05-16]. <https://doi.org/10.1016/j.exer.2020.108279>.
- [7] LI C, STOMA S, LOTTA L A, et al. Genome-wide association analysis in humans links nucleotide metabolism to leukocyte telomere length [J]. *Am J Hum Genet*, 2020, 106 (3): 389–404.
- [8] 梁伟, 贡欣, 张晓晓, 等. 子宫内腺癌与乳腺癌的双向孟德尔随机化研究 [J]. *预防医学*, 2024, 36 (4): 350–354.
- [9] SKRIVANKOVA V W, RICHMOND R C, WOOLF B A R, et al. Strengthening the reporting of observational studies in epidemiology using mendelian randomization: the STROBE-MR Statement [J]. *JAMA*, 2021, 326 (16): 1614–1621.
- [10] YUAN S, WOLK A, LARSSON S C. Metabolic and lifestyle factors in relation to senile cataract: a Mendelian randomization study [J]. *Sci Rep*, 2022, 12 (1): 1–7.
- [11] LI L, WAN X H, ZHAO G H. Meta-analysis of the risk of cataract in type 2 diabetes [J]. *BMC Ophthalmol*, 2014, 14: 1–8.
- [12] YU X N, LYU D N, DONG X R, et al. Hypertension and risk of cataract: a meta-analysis [J/OL]. *PLoS One*, 2014, 9 (12) [2024-05-16]. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0114012>.
- [13] LINDBLAD B E, HAKANSSON N, WOLK A. Smoking cessation and the risk of cataract: a prospective cohort study of cataract extraction among men [J]. *JAMA Ophthalmol*, 2014, 132 (3): 253–257.
- [14] 李红梅, 肖倩, 谢潇潇, 等. 肠道微生物与便秘的双向孟德尔随机化研究 [J]. *预防医学*, 2024, 36 (3): 198–202.
- [15] BURGESS S, SCOTT R A, TIMPSON N J, et al. Using published data in Mendelian randomization: a blueprint for efficient identification of causal risk factors [J]. *Eur J Epidemiol*, 2015, 30 (7): 543–552.
- [16] BOWDEN J, DAVEY SMITH G, BURGESS S. Mendelian randomization with invalid instruments: effect estimation and bias detection through Egger regression [J]. *Int J Epidemiol*, 2015, 44 (2): 512–525.
- [17] BOWDEN J, DAVEY SMITH G, HAYCOCK P C, et al. Consistent estimation in Mendelian randomization with some invalid instruments using a weighted median estimator [J]. *Genet Epidemiol*, 2016, 40 (4): 304–314.
- [18] HARTWIG F P, DAVEY SMITH G, BOWDEN J. Robust inference in summary data Mendelian randomization via the zero modal pleiotropy assumption [J]. *Int J Epidemiol*, 2017, 46 (6): 1985–1998.
- [19] 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.
- [20] BABIZHAYEV M A, YEGOROV Y E. Telomere attrition in human lens epithelial cells associated with oxidative stress provide a new therapeutic target for the treatment, dissolving and prevention of cataract with N-acetylcarnosine lubricant eye drops. Kinetic, pharmacological and activity-dependent separation of therapeutic targeting: transcorneal penetration and delivery of L-carnosine in the aqueous humor and hormone-like hypothalamic antiaging effects of the instilled ophthalmic drug through a safe eye medication technique [J]. *Recent Pat Drug Deliv Formul*, 2016, 10 (2): 82–129.
- [21] BABIZHAYEV M A, VISHNYAKOVA K S, YEGOROV Y E. Oxidative damage impact on aging and age-related diseases: drug targeting of telomere attrition and dynamic telomerase activity flirting with imidazole-containing dipeptides [J]. *Recent Pat Drug Deliv Formul*, 2014, 8 (3): 163–192.
- [22] BABIZHAYEV M A, YEGOROV Y E. Biomarkers of oxidative stress and cataract. Novel drug delivery therapeutic strategies targeting telomere reduction and the expression of telomerase activity in the lens epithelial cells with N-acetylcarnosine lubricant eye drops: anti-cataract which helps to prevent and treat cataracts in the eyes of dogs and other animals [J]. *Curr Drug Deliv*, 2014, 11 (1): 24–61.
- [23] BAINS S K, CHAPMAN K, BRIGHT S, et al. Effects of ionizing radiation on telomere length and telomerase activity in cultured human lens epithelium cells [J]. *Int J Radiat Biol*, 2019, 95 (1): 54–63.

收稿日期: 2024-02-23 修回日期: 2024-05-16 本文编辑: 徐文璐