

DOI: 10.14188/j.1671-8852.2024.0661

文章编号 1671-8852(2026)03-0343-05

甲状腺功能减退与增殖性糖尿病视网膜病变风险 及免疫细胞中介作用的孟德尔随机化分析

邓小溪^{1,2} 杨奎亮^{1,2} 卢明治^{1,2} 杨万举^{1,2} 董 敏^{1,2} 邢怡桥^{1,2}

¹武汉大学人民医院眼科中心 湖北 武汉 430060;

²武汉大学附属爱尔眼科医院 湖北 武汉 430060

摘要 目的:探讨甲状腺功能减退症(甲减)与增殖性糖尿病视网膜病变(PDR)之间的因果关系,并进一步分析免疫细胞在其中的中介作用。方法:研究采用孟德尔随机化方法,利用来自芬兰数据库的PDR全基因组关联分析数据和UK Biobank数据库的甲减数据,结合731种免疫细胞表型的基因数据进行分析。结果:甲减显著增加了PDR的风险,逆方差加权法(IVW)分析结果为 $OR=26.64$, $P<0.001$ 。通过MR-Egger检验和MR-PRESSO检验,确认了结果的稳健性。中介分析发现,CD28 on CD28⁺ CD45RA⁺ CD8⁺ T细胞和HLA-DR on CD14⁺单核细胞在甲减与PDR之间具有部分中介作用,其中介效应比分别为10.67%和18.83%。结论:本研究通过孟德尔随机化方法揭示了甲减与PDR的因果关系,并指出了免疫细胞在这一过程中的潜在中介作用,为糖尿病视网膜病变的预防和治疗提供了新的策略。

关键词 甲状腺功能减退症;增殖性糖尿病视网膜病变;孟德尔随机化;中介分析

中图分类号 R774.1

文献标志码 A

Mendelian randomization analysis of the association between hypothyroidism and the risk of proliferative diabetic retinopathy and the mediating role of immune cells

DENG Xiaoxi^{1,2}, YANG Kuiliang^{1,2}, LU Mingzhi^{1,2}, YANG Wanju^{1,2}, DONG Min^{1,2}, XING Yiqiao^{1,2}

¹Ophthalmology Center, Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan 430060, Hubei, China;

²Aier Eye Hospital of Wuhan University, Wuhan 430060, Hubei, China

Abstract

Objective: To explore the causal relationship between hypothyroidism and proliferative diabetic retinopathy (PDR) and further analyze the mediating role of immune cells in this process. **Methods:** A Mendelian randomization approach was used, utilizing genome-wide association study (GWAS) data for PDR from the Finnish database and hypothyroidism data from the UK Biobank database. Additionally, gene data for 731 immune cell phenotypes were analyzed. **Results:** Hypothyroidism significantly increased the risk of PDR, with an inverse variance weighted (IVW) analysis result of $OR=26.64$, $P<0.001$. The robustness of the results was confirmed through MR-Egger and MR-PRESSO tests. Mediation analysis revealed that CD28 on CD28⁺ CD45RA⁺ CD8⁺ T cells and HLA-DR on CD14⁺ monocytes had a partial mediating effect between hypothyroidism and PDR, with mediation effect ratios of 10.67% and 18.83%, respectively. **Conclusion:** This study revealed the causal relationship

作者简介:邓小溪,男,1998—,医学硕士生,主要从事糖尿病视网膜研究,E-mail: 1780427773@qq.com。

通信作者:邢怡桥,E-mail: Yiqiao_xing57@whu.edu.cn。

between hypothyroidism and PDR using the Mendelian randomization method and identified the potential mediating role of immune cells in this process, providing new strategies for the prevention and treatment of diabetic retinopathy.

Key Words Hypothyroidism; Proliferative Diabetic Retinopathy; Mendelian Randomization; Mediation Analysis

增殖性糖尿病视网膜病变(proliferative diabetic retinopathy, PDR)是糖尿病视网膜病变(diabetic retinopathy, DR)的一种晚期并发症,可导致失明^[1]。其特征是血管通透性增加、视网膜缺血水肿以及新生血管形成^[2]。据估计,全球糖尿病人群中DR的患病率为22.27%,而威胁视力的DR(包括PDR和糖尿病性黄斑水肿)的患病率估计为6.17%^[3]。

流行病学研究^[4]表明PDR发生与甲状腺功能减退症(hypothyroidism,简称甲减)有关。然而这些流行病学中,可能受一些混杂因素、观察周期短等因素的影响^[5]。一种新的科学研究方法——孟德尔随机化(Mendelian randomization, MR)分析可以从因果关系角度推断甲减与PDR的因果关系。其原理是利用与暴露因素具有较强的遗传工具变量来探讨他们的关系^[6]。目前,尚不清楚甲减与PDR之间的中介因素。免疫细胞可能在这个过程中具有重要作用^[7]。因此,此研究拟使用MR分析探索甲减与PDR风险之间的因果关系,并使用两步法MR分析探讨731种免疫细胞表型的中介作用。

1 资料与方法

1.1 资料来源 从芬兰数据库获取PDR的全基因组关联分析汇总数据,其中包括8 681例PDR患者和204 208例对照。甲减的汇总数据来源于UK Biobank数据库(<https://www.nealelab.is/uk-bio-bank>),其中包括病例16 376人和对照320 783。731种免疫细胞表型数据则来源于GWAS目录, GWAS ID 范围从GCST90001391到GCST90002121,包含3 757名欧洲个体的研究数据。

1.2 工具变量筛选 工具变量——单核苷酸多态性(single-nucleotide polymorphism, SNP)应满足MR三个假设,分别为:关联性假设、独立性假设和排他性假设^[8]。第一,筛选条件均设为 $P < 5 \times 10^{-8}$,以明确遗传工具变量具有显著的统计学意义。第二,连锁不平衡系数 R^2 设置为0.001,区域宽度设为10 000 kb,以确保所选的SNP位点相互独立,并减少多效性的影响。第三,应用孟德尔随机化多效

性残差和离群值(Mendelian randomization pleiotropy residual sum and outlier, MR-PRESSO)、MR-Egger检验来监测潜在的水平多效性效应并通过中介分析来验证排他性假设。最后,为了避免弱的工具变量的偏差,使用 F 统计量评估工具变量的强度,将 $F < 10$ 定义为弱工具变量并进行排除。

1.3 统计学分析 我们采用两样本MR方法进行探索甲减与PDR发生风险的因果关系。主要使用逆方差加权法(inverse variance weighted, IVW)进行结果报告。风险关系以OR值及95%CI表示, $P < 0.05$ 表示具有统计学意义。为了明确甲减与PDR之间的因果方向,进行反向MR验证,以消除反向因果关系。此外,使用两步法MR进一步评估了731种免疫细胞表达水平在甲减与PDR的中介作用。暴露因素与结局相关性设为 β_0 ,暴露与中介相关性为 β_1 ,中介与结局相关性设为 β_2 ,中介效应比 $= \beta_1 \times \beta_2 / \beta_0$ 。使用散点图、漏斗图、MR-PRESSO检验、MR-Egger检验、Cochran Q检验和留一法分析进行敏感性分析。本研究分析均在R 4.4.0软件中进行。

2 结果

2.1 甲状腺功能减退与增殖性糖尿病视网膜病变的因果关系 79个显著的遗传工具变量被筛选确定为甲状腺功能减退的工具变量进行MR分析。MR结果显示,甲状腺功能减退会增加增殖性糖尿病视网膜病变的风险。IVW方法显示其效应值为3.282,OR为26.64, $P < 0.001$ 。其余方法的OR值均大于1,且均具有统计学意义,详见图1。

通过对散点图和漏斗图的观察,表明工具变量的选择相对平衡,如图2所示,无明显偏倚。留一法检验结果显示,去除任意一个SNP后,其他SNP的分析结果仍位于无效线的右侧,说明去除任意一个SNP不会对结果产生显著影响。

如表1所示,MR-Egger检验显示 $P > 0.05$,提示不存在明显的水平多效性。尽管MR-PRESSO检验发现了多效性问题($P < 0.001$)并识别了四个离群值(rs6679677、rs2736191、rs76518703、rs7768109),但

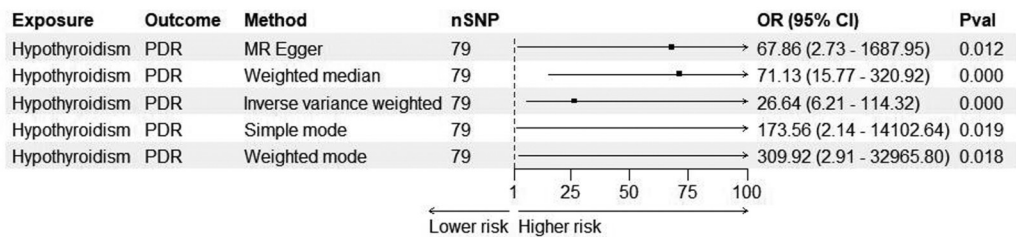
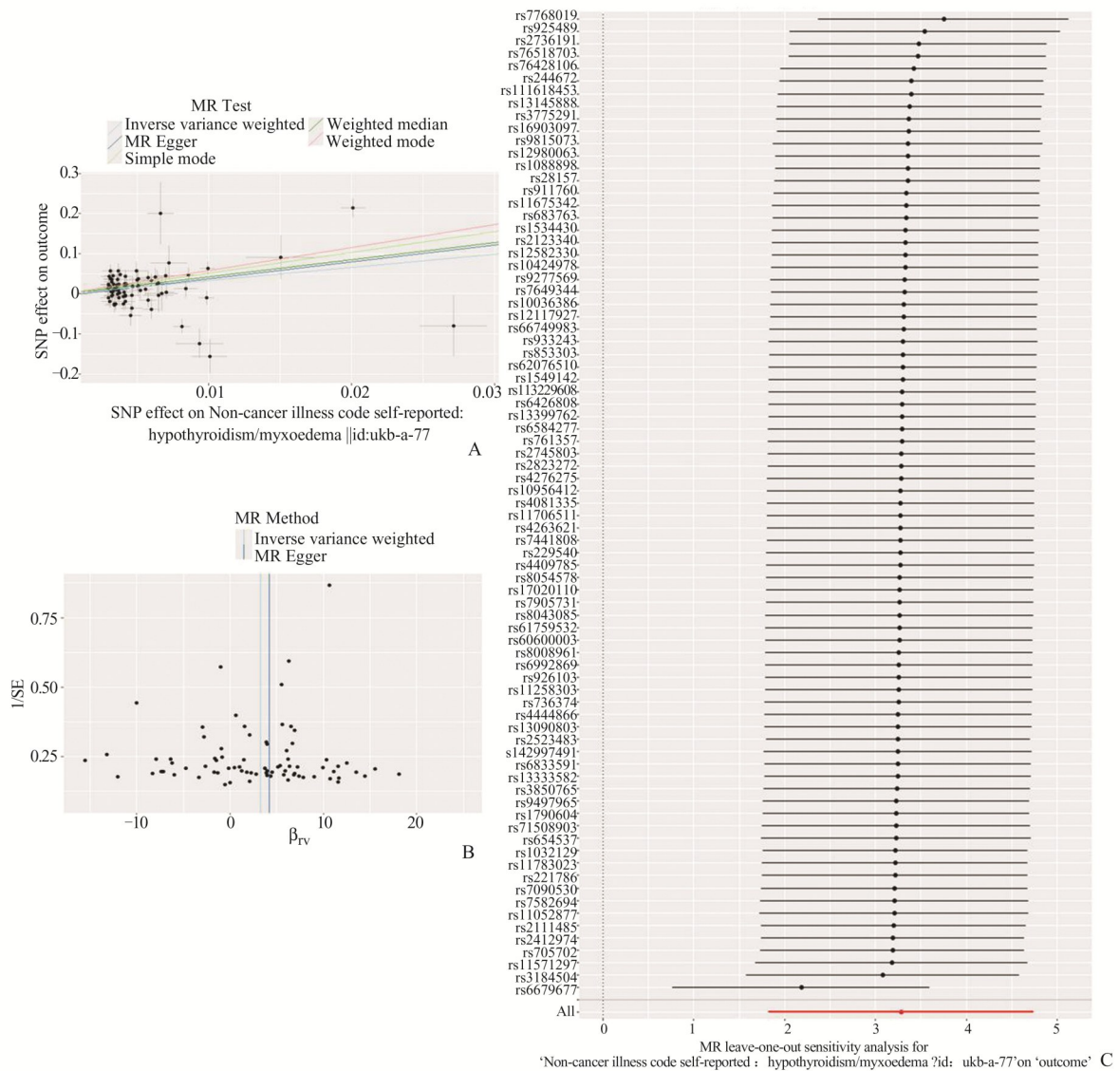


图 1 甲减对 PDR 发生风险的森林图



A. 散点图; B. 漏斗图; C. 留一分析。

图 2 敏感性分析

结果在移除离群值后依然保持相对稳定($P=0.777$)。这表明分析结果是相对稳健可靠的。Cochran Q 检验显示 $P<0.001$,提示存在异质性。因此,本研究重点关注 IVW 模型,以更准确地估计结果。

在这项研究中,反向分析即检测 PDR 是否会增加甲减的风险时确定了 9 个 SNP 作为工具变量。

表 1 敏感性分析结果

敏感性分析	方法	P
MR-Egger 检验	Egger_intercept	0.524
MR-PRESSO 检验	MR-PRESSO Global Test	<0.001
	MR-PRESSO Distortion Test	0.777
Cochran Q 检验	MR Egger	<0.001
	Inverse variance weighted	<0.001

如图 3 所示,IVW 方法并未发现显著关联。

2.2 中介分析结果 在探索甲减对 731 种免疫细胞表型的因果关系时,我们筛选到了 4 种显著相关的细胞表型。如表 2 所示,使用 IVW 方法分析,显示甲减对 CD28 on CD28⁺ CD45RA⁺ CD8⁺ T 细胞(CD28 在 CD28⁺ CD45RA⁺ CD8⁺ T 细胞上的表达)的效应值为 2.519($P=0.037$),提示甲减与该表型呈正相

关。对 HLA DR on CD14⁺ 单核细胞(HLA DR 在 CD14⁺ 单核细胞上的表达)的效应值为 1.781($P=0.021$),表明甲减可能增加 CD14⁺ 单核细胞中 HLA DR 表达的水平。而甲减对 HLA DR on CD14⁻ CD16⁻ 的效应值为 -1.651($P=0.036$),对 HLA DR on CD33⁺ HLA DR⁺ CD14⁻ 的效应值为 -2.238($P=0.027$),提示甲减与这两种免疫表型呈负相关。

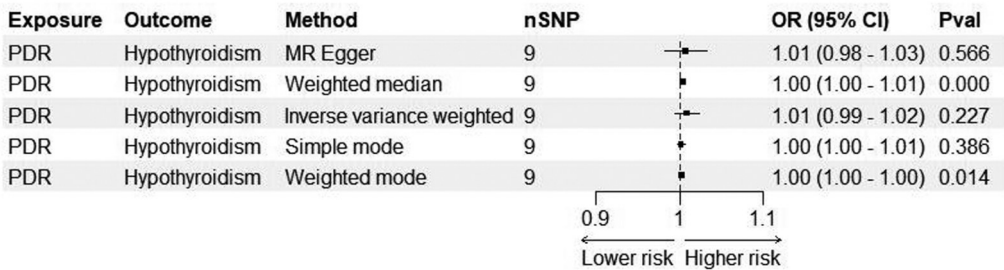


图 3 反向分析结果

表 2 甲减对免疫细胞表型的 MR 结果

暴露	结局	方法	效应值	标准误	P
甲减	CD28 on CD28 ⁺ CD45RA ⁺ CD8 ⁺ T 细胞	IVW	2.519	1.208	0.037
甲减	HLA DR on CD14 ⁺ 单核细胞	IVW	1.781	0.769	0.021
甲减	HLA DR on CD14 ⁻ CD16 ⁻	IVW	-1.651	0.787	0.036
甲减	HLA DR on CD33 ⁺ HLA DR ⁺ CD14 ⁻	IVW	-2.238	1.012	0.027

对上述四种免疫细胞表型对 PDR 的因果关系进一步进行 MR 分析,确定 CD28 on CD28⁺ CD45RA⁺ CD8⁺ T 细胞和 HLA DR on CD14⁺ 单核细胞表型对 PDR 的发生风险方向一致,且显示会增加 PDR 风险。

如表 3 所示,效应值分别为 0.139($P=0.001$),0.347($P=0.001$)。这些结果可能表明,这两种免疫细胞表型可能会增加 PDR 的发生风险。剩余两种免疫细胞由于 β_1 与 β_0 方向不一致,未进行中介分析。

表 3 免疫细胞对增殖性糖尿病视网膜病变的 MR 结果

暴露	结局	方法	效应值	标准误	P
CD28 on CD28 ⁺ CD45RA ⁺ CD8 ⁺ T 细胞	PDR	IVW	0.139	0.041	0.001
HLA DR on CD14 ⁺ 单核细胞	PDR	IVW	0.347	0.100	0.001
HLA DR on CD14 ⁻ CD16 ⁻	PDR	IVW	-0.290	0.056	<0.001
HLA DR on CD33 ⁺ HLA DR ⁺ CD14 ⁻	PDR	IVW	0.336	0.039	<0.001

在中介分析中,CD28 on CD28⁺ CD45RA⁺ CD8⁺ T 细胞表型的中介效应为 0.350,而 HLA DR on CD14⁺ 单核细胞表型的中介效应为 0.618。如图 4,中介效应比分别为 10.67% 和 18.83%。这些结果表明,在甲状腺功能减退与 PDR 风险的因果关系中循环免疫细胞表型只起到部分中介作用。

3 讨论

本研究通过两样本 MR 分析方法,探索了甲减与 PDR 风险之间的因果关系,并揭示了免疫细胞在其中的潜在中介作用。MR 结果推测甲减增加 PDR 的风险,反向分析显示 PDR 并不会增加甲减的风

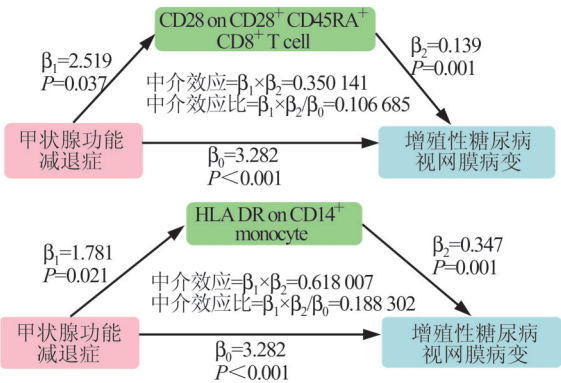


图 4 中介分析结果示意图

险。既往一项大型流行病学研究中,共纳入 928 名 2 型糖尿病患者。研究^[9]发现,患有甲状腺功能减退

症的患者发生DR的风险是非甲状腺功能减退症患者的2.33倍。而Meta分析结果进一步证实了DR与亚临床甲减之间的显著相关性($OR=2.13$, $95\%CI: 1.41\sim3.23$, $P<0.001$)。基于现有证据,甲状腺功能减退可能是DR的重要危险因素之一。本研究结果与先前的流行病学研究是一致的。

甲减可能通过多种途径增加糖尿病视网膜病变的风险。LIN等人^[10]发现促甲状腺素受体(TSHR)存在于视网膜周细胞(PC)上,并且TSH可以通过TSHR依赖的线粒体凋亡途径调节高糖诱导的PC丧失。此外,有研究^[11]表明每增加一个单位的促甲状腺激素,DR的发生概率显著增加13%。这一发现表明,甲减可以通过升高TSH的水平从而增加DR的风险。然而,先前的一项MR研究^[12]探讨了甲状腺激素与PDR的因果关系,未发现显著关联。因此甲减不太可能通过改变甲状腺激素水平直接影响PDR的发生。本研究则进一步探索了免疫细胞在甲减与PDR风险之间的中介作用。我们研究表明甲减可能通过免疫细胞轴对PDR的发生产生影响。甲状腺功能减退症引发的免疫系统异常可能加剧DR的进展^[13]。另外,多项研究^[14-15]证明甲减与糖尿病均为免疫性疾病,并且自身免疫的攻击可导致胰腺B细胞或甲状腺细胞受损从而导致糖尿病或甲减、亚甲减。因此,免疫细胞异常可能成为DR和甲减的共同病理基础。值得注意的是,在甲状腺功能减退与PDR风险的因果关系中,免疫细胞表型只起到了部分中介作用。因此甲减仍有可能通过其他机制增加PDR风险^[16]。

本研究可能具有的优点:(1)本研究使用了MR分析,这是一个强大的工具,可以有效地减少传统流行病学研究中的混杂因素和反向因果关系的影响^[17]。(2)本研究通过散点图、漏斗图、Cochran Q检验和留一法分析等多种敏感性分析,评估了工具变量的选择和分析方法的稳健性,不太可能违背MR分析的核心原则。(3)本研究不仅探讨了甲减与PDR的直接因果关系,还进一步分析了免疫细胞在其中的潜在中介作用。这为理解甲减如何影响PDR提供了新的生物学视角,并为未来的机制研究和潜在治疗靶点的发现奠定理论基础。

尽管本研究采用了先进的孟德尔随机化方法,并尽量控制了混杂因素,仍然存在一些局限性。首先,本研究仅使用了来自欧洲人群的基因组数据,可能限制了研究结果对其他种族人群的普适性。其次,本研究的中介分析仅限于731种免疫细胞表

型,其他可能的中介机制尚未被探讨。未来的研究可以在更广泛的种族人群中验证本研究的发现,并通过进一步揭示甲减如何通过免疫细胞影响PDR的发生机制。此外,还可以探索其他可能的中介机制,如代谢通路或炎症等^[18],以更全面地理解甲减与PDR之间的因果关系。

综上所述,本研究通过MR分析,推定甲减会增加PDR的风险,并探讨了免疫细胞在这一过程中的潜在中介作用。这些发现为理解甲减与PDR的关系提供了新的视角,并可能为糖尿病视网膜病变的预防和治疗提供新的策略。



开放科学(资源服务)标识码(OSID):

参考文献

- [1] MARTINEZ - ZAPATA M J, SALVADOR I, MARTÍ-CARVAJAL A J, et al. Anti-vascular endothelial growth factor for proliferative diabetic retinopathy [J]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2023, 3(3): CD008721.
- [2] AI X, YU P, LUO L, et al. Berberis dictyophylla F. inhibits angiogenesis and apoptosis of diabetic retinopathy via suppressing HIF-1 α /VEGF/DLL-4/Notch-1 pathway[J]. *J Ethnopharmacol*, 2022, 296: 115453.
- [3] LIN K Y, HSIH W H, Lin Y B, et al. Update in the epidemiology, risk factors, screening, and treatment of diabetic retinopathy[J]. *J Diabetes Investig*, 2021, 12(8): 1322-1325.
- [4] HEIDARI Z, ASADZADEH R. Subclinical hypothyroidism is a risk factor for diabetic retinopathy in patients with type 2 diabetes mellitus[J]. *Med J Islam Repub Iran*, 2021, 35: 186.
- [5] DENG Y, PAN W. Model checking via testing for direct effects in Mendelian randomization and transcriptome-wide association studies[J]. *PLoS Comput Biol*, 2021, 17(8): e1009266.
- [6] BADSHA M B, FU A Q. Learning causal biological networks with the principle of Mendelian randomization [J]. *Front Genet*, 2019, 10: 460.
- [7] LI J, NIU Q, WU A, et al. Causal relationship between circulating immune cells and the risk of type 2 diabetes: A Mendelian randomization study[J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2023, 14: 1210415.
- [8] LI S, WANG Q, TAN X, et al. Effect of neonatal and adult sepsis on inflammation-related diseases in multiple physiological systems: A Mendelian randomization study[J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2023, 14: 1215751.

(下转第353页)