

· 临床研究 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2024.16.006

网络首发 [https://link.cnki.net/urlid/50.1097.R.20240512.1540.002\(2024-05-12\)](https://link.cnki.net/urlid/50.1097.R.20240512.1540.002(2024-05-12))

基于孟德尔随机化分析探讨类风湿关节炎与肺动脉高压的因果关系*

王 勇,姚晓玲,凌 益,杨豫正,马武开[△]

(贵州中医药大学第二附属医院风湿免疫科,贵阳 550001)

[摘要] **目的** 通过孟德尔随机化设计方法探讨类风湿关节炎(RA)与肺动脉高压(PH)的因果关系。方法 使用公开的全基因组关联研究获取暴露与结局的单核苷酸多态性(SNPs)数据进行汇总分析。使用逆方差加权法(IVW)作为主要分析方法评估暴露因素(RA)对结局(PH)的因果效应。以 MR-Egger 回归法、加权中位数法(WM)、加权模式和简单模式作为回归补充说明,进行敏感性分析评估结果的稳健性;采用“heterogeneity”函数计算 P 值检验异质性,采用“horizontal pleiotropy”函数计算 P 值检验水平多效性。**结果** 在 GWAS 数据库中收录的“FINNGEN 数据”中选择出的 SNPs 经孟德尔随机分析去除连锁不平衡且满足 $P < 5 \times 10^{-8}$, 具有强相关性;通过整合暴露因素与结局获取了有效工具变量。IVW 结果显示,RA 是 PH 的风险因素($OR = 1.295, 95\%CI: 1.053 \sim 1.593, P = 0.014$)。“heterogeneity”函数检验表明结果不存在异质性($P = 0.221$);“horizontal pleiotropy”函数检验表明结果不存在水平多效性($P = 0.877$),总体结果稳健可靠。**结论** RA 是 PH 的危险因素,RA 与 PH 存在正向关联。

[关键词] 类风湿关节炎;肺动脉高压;孟德尔随机化分析;因果关联

[中图法分类号] R593.22 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2024)16-2432-06

Study on causal relationship between rheumatoid arthritis and pulmonary hypertension based on Mendelian randomization*

WANG Yong, YAO Xiaoling, LING Yi, YANG Yuzheng, MA Wukai[△]

(Department of Rheumatology and Immunology, Second Affiliated Hospital of Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang, Guizhou 550001, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the causal relationship between rheumatoid arthritis (RA) and pulmonary hypertension (PH) by the Mendelian randomization design method. **Methods** The data on single nucleotide polymorphisms (SNPs) of exposure and outcome were obtained by using publicly available genome-wide association studies and the summary analysis was conducted; the inverse variance-weighted (IVW) method as the primary analysis method was used to assess the causal effect of exposure factors (RA) on the outcomes (PH); the MR-Egger regression method, weighted median method (WM), weighted model and simple model were used as supplementary regression explanations to conduct the sensitivity analysis for evaluating the robustness of results; the “heterogeneity” function was used to calculate the “ P value” for testing the heterogeneity, and the “horizontal pleiotropy” function was used to calculate the “ P value” to test the level pleiotropy. **Results** In the “FINNGEN data” included in the GWAS database, the SNPs had the strong correlation after removing the linkage imbalance by Mendelian random analysis and satisfying “ $P < 5 \times 10^{-8}$ ” were selected, the effective instrumental variables were obtained by integrating the exposure and outcome. The IVW results showed that RA was a risk factor for PH ($OR = 1.295, 95\%CI: 1.053 - 1.593, P = 0.014$). “heterogeneity” function test showed that the results had no heterogeneity ($P = 0.221$); “horizontal pleiotropy” function test showed that the results had no horizontal pleiotropy ($P = 0.877$), and the total results were steady and reliable. **Conclusion** RA is a risk factor for PH, and RA is positively associated with PH.

[Key words] rheumatoid arthritis; pulmonary hypertension; Mendelian randomization analysis; causal association

* 基金项目:国家自然科学基金项目(82274678);贵州省中医风湿免疫病临床研究中心项目(黔科合平台人才[2020]2202)。△ 通信作者, E-mail: walker55@163.com。

类风湿关节炎(rheumatoid arthritis,RA)是一种以侵蚀性关节炎为主要临床表现的自身免疫性疾病(autoimmune disease,AD),也是常见的结缔组织病(connective tissue diseases,CTDs)之一,可发生于任何年龄^[1-2],常因遗传易感性因素和环境触发因素而致多组织多器官多系统受累,易合并肺动脉高压(pulmonary hypertension,PH)、肺间质纤维化、结节样改变、心包炎等病症。

PH是一种心肺血管破坏性疾病,肺循环压力进行性升高及肺血管重塑是其主要特征。PH包括:(1)特发性的PH,其特征性疾病有CTDs、门静脉高压症等;(2)不明原因或多因素所致的PH,其特征性疾病有系统性疾病、代谢性疾病等,终末期因右心衰竭导致死亡^[3]。有研究表明,肺血管内皮细胞、肺血管管壁周边的炎症细胞浸润与病情进展密切相关^[4-5],PH是CTDs常见病变之一,炎症细胞因子活动度与病情呈正相关。

既往CTDs-PH的相关研究较少,前期诊断不易,后期治疗难度较大且预后较差,近年由于医学检查手段(经胸超声心动图、胸部CT、心血管MRI、脑钠肽等)的多样性及普及宣教,PH的诊疗水平不断优化^[6-7]。系统性红斑狼疮(systemic lupus erythematosus,SLE)、干燥综合征(Sjögren syndrome,SS)在CTDs-PH中的发生率较高^[8-10],我国SLE、SS、系统

性硬皮病(systemic scleroderma,SSc)相关的PH所占比例约为49%、16%、6%^[11-12]。RA作为CTDs的常见疾病之一,常合并PH、左心功能不全和静脉血栓栓塞性疾病^[13],但是RA导致PH还是PH导致RA,受空间性、时效性等混杂因素的干扰并未有明确的共识。为了减弱这些混杂因素的影响,本研究采用孟德尔随机化(Mendelian randomization,MR),通过基因型信息即既定的单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphisms,SNPs)作为暴露与结局的工具变量(instrumental variables,IVs),综合双方的相关性、敏感性来分析其因果关系^[14]。该方法基于全基因组关联研究(genome-wide association studies,GWAS)的条件下进行统计分析,结果可靠且稳定。

1 资料与方法

1.1 一般资料

本研究以RA作为暴露因素,同结局变量PH进行单变量孟德尔随机化(univariable Mendelian randomization,UVMR)分析,探讨RA和PH的因果效应。MR分析满足假设:(1)相关性假设:IVs与暴露因素(RA)强相关;(2)独立性假设:IVs独立于观察到或未观察到的混杂因素;(3)排他性假设:IVs仅通过暴露因素(RA)影响结局(PH)。具体流程见图1。一般资料来源于芬兰数据库(https://www.finngen.fi/en/access_results),见表1。

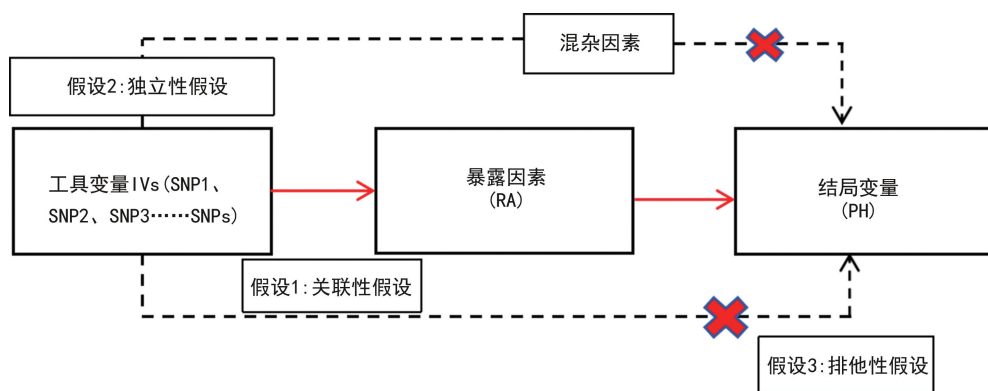


图1 UVUR流程图

表1 RA与PH一般资料

疾病表型	病例数(n)	对照个体(n)	SNPs(n)
PH	234	265 626	20 166 695
RA	9 139	368 029	20 170 234

1.2 方法

为满足以上MR分析假设,设定 $P < 5 \times 10^{-8}$ 作为关联阈值用于选择符合条件的SNPs;为避免连锁不平衡(linkage disequilibrium,LD),设定 $r^2 < 0.001$ 和窗宽 < 1 Mb;选取满足假设的效应值:pval值、eaf值、效应等位基因大小估计(β)、标准误(SE)。以逆方差加权法(inverse variance weighted,IVW)^[15-16]作

为主要分析方法分别评估RA与PH的因果关系;以MR-Egger回归法^[17]、加权中位数法(weighted median,WM)^[18]、简单模式和加权模式^[19]作为回归补充说明以验证结果的可靠性;敏感性分析采用“heterogeneity”函数检验异质性,采用“horizontal pleiotropy”函数检验是否存在水平多效性以验证结果的稳健性。从中选择31个SNPs作为IVs并记录相应的效应等位基因和非效应等位基因,效应值包括pval值、eaf值、 β 、SE,见表2。

1.3 统计学处理

所有数据分析用R语言(4.3.1版)软件R包“Two-Sample-MR”;通过比值比(odds ratio,OR)、

95%置信区间(95% confidence interval, 95% CI)等 结果表示,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

表 2 RA 与 PH IVs 的基本信息

染色体	RA 表型						PH 表型					
	效应 等位基因	非效应 等位基因	β	效应等位 基因频率	SE	P	效应 等位基因	非效应 等位基因	β	效应等位 基因频率	SE	P
10174238	A	G	-0.116	0.764	0.017	<0.001	A	G	-0.103	0.765	0.110	0.347
1024162	T	A	-0.134	0.325	0.016	<0.001	T	A	-0.154	0.325	0.099	0.121
10517086	A	G	0.110	0.282	0.016	<0.001	A	G	0.057	0.282	0.103	0.580
10821948	A	C	0.094	0.425	0.015	<0.001	A	C	-0.075	0.425	0.094	0.429
117292830	A	G	0.655	0.038	0.032	<0.001	A	G	0.332	0.037	0.244	0.174
117753409	A	C	0.148	0.085	0.026	<0.001	A	C	0.170	0.085	0.165	0.303
13180950	C	T	0.115	0.155	0.020	<0.001	C	T	0.012	0.155	0.129	0.928
1451723	T	C	0.084	0.536	0.015	<0.001	T	C	0.015	0.535	0.093	0.869
16903065	A	C	-0.143	0.115	0.024	<0.001	A	C	0.100	0.116	0.144	0.490
2013002	C	T	-0.108	0.618	0.015	<0.001	C	T	-0.214	0.621	0.096	0.026
2249354	A	G	0.376	0.983	0.068	<0.001	A	G	0.076	0.983	0.375	0.839
2476601	G	A	-0.414	0.852	0.019	<0.001	G	A	-0.283	0.852	0.129	0.028
28579922	A	G	-0.685	0.125	0.026	<0.001	A	G	0.014	0.125	0.142	0.921
3114891	G	A	0.087	0.428	0.015	<0.001	G	A	0.238	0.427	0.094	0.012
3118470	C	T	0.090	0.441	0.015	<0.001	C	T	-0.149	0.441	0.094	0.110
3128927	T	C	-0.324	0.227	0.019	<0.001	T	C	-0.248	0.227	0.111	0.025
34536443	C	G	-0.404	0.030	0.050	<0.001	C	G	0.054	0.031	0.271	0.842
3757387	C	T	0.105	0.425	0.015	<0.001	C	T	0.019	0.426	0.093	0.839
4129745	G	A	-0.100	0.286	0.017	<0.001	G	A	0.210	0.286	0.103	0.041
6032664	T	A	0.096	0.727	0.017	<0.001	T	A	-0.105	0.728	0.104	0.312
60600003	G	T	0.134	0.102	0.024	<0.001	G	T	0.033	0.102	0.153	0.827
6456160	C	T	-0.112	0.558	0.015	<0.001	C	T	-0.049	0.559	0.094	0.599
66654254	A	G	-0.087	0.435	0.015	<0.001	A	G	-0.025	0.434	0.095	0.795
71565324	A	C	0.590	0.008	0.070	<0.001	A	C	-0.515	0.009	0.498	0.301
72854535	C	T	0.219	0.129	0.021	<0.001	C	T	-0.092	0.129	0.138	0.506
73510898	A	G	-0.156	0.085	0.028	<0.001	A	G	0.008	0.085	0.167	0.960
74912105	G	A	0.363	0.015	0.056	<0.001	G	A	0.513	0.015	0.381	0.179
7731626	A	G	-0.099	0.279	0.017	<0.001	A	G	0.036	0.279	0.103	0.729
78248443	T	C	-0.164	0.075	0.030	<0.001	T	C	0.075	0.075	0.176	0.670
78782944	T	C	0.163	0.095	0.025	<0.001	T	C	0.048	0.095	0.159	0.763
9268543	T	A	0.688	0.152	0.018	<0.001	T	A	0.182	0.151	0.131	0.164

2 结 果

2.1 UVMR 分析结果

IVW 分析结果显示,RA 人群发生 PH 的风险是无 RA 人群的 1.295 倍 ($OR = 1.295, 95\% CI: 1.053 \sim 1.593, P = 0.014$); WM、MR-Egger、简单模式与加权模式分析结果显示,RA 可视为 PH 的危险因素,差异无统计学意义 ($P > 0.05$),见表 3。

2.2 敏感性分析

“heterogeneity”函数检验表明结果不存在异质性 ($P = 0.221$);“horizontal pleiotropy”函数检验表明结果不存在水平多效性 ($P = 0.877$),总体结果稳健可靠。

2.3 UVMR 结果可视化

随着 RA 的升高,PH 的发病风险也在升高,见图 2。采用 RA 与 PH“留一法”逐一剔除每个 SNP,结果显示总体误差线位于“0”的右侧,结果可靠;RA 与 PH 的漏斗图偏倚较小,见图 3。

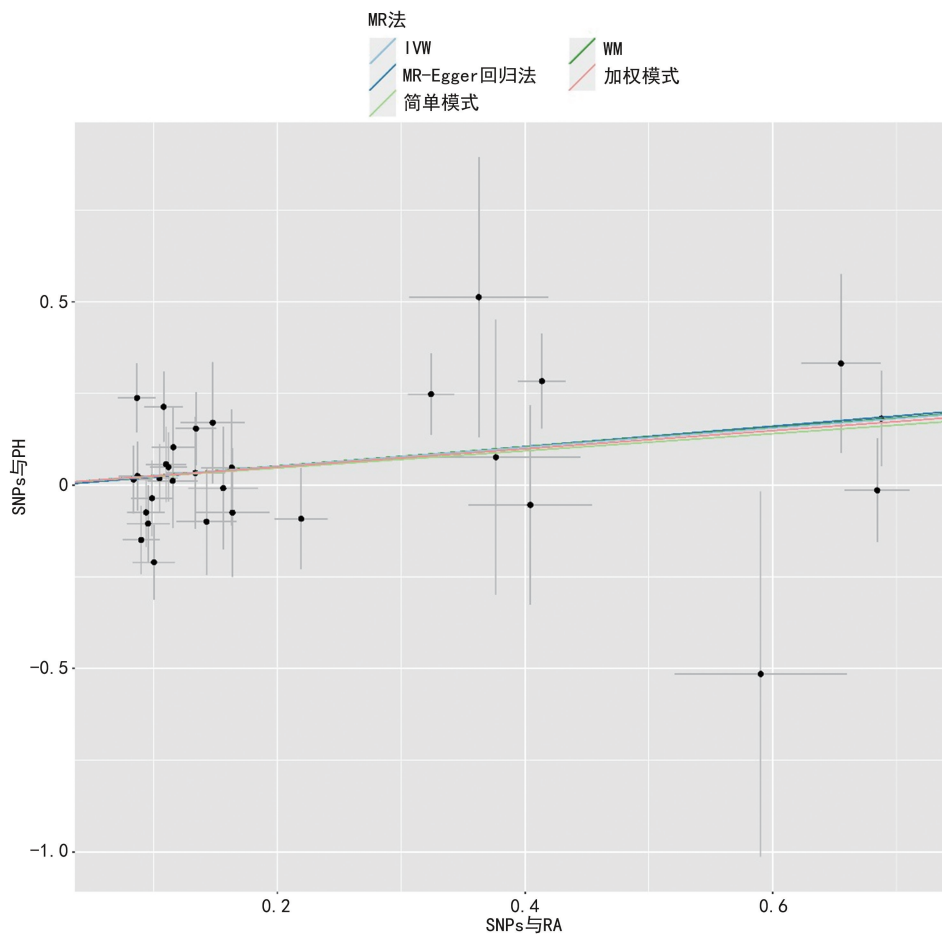


图 2 UVMR 结果可视化图

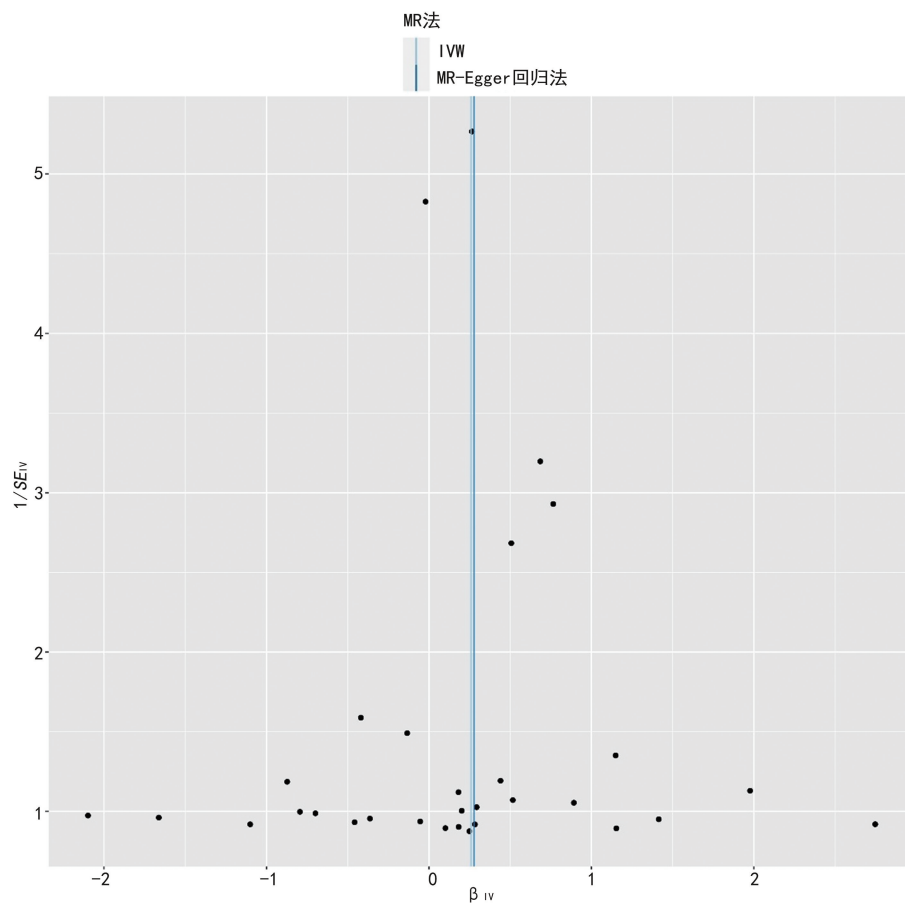


图 3 RA 与 PH 漏斗图

表 3 UVMR 分析结果

项目	SNPs	β	SE	P	OR	95%CI
MR-Egger	31	0.277	0.160	0.094	1.320	0.964~1.805
WM	31	0.262	0.149	0.078	1.299	0.971~1.739
IVW	31	0.259	0.106	0.014	1.295	1.053~1.593
简单模式	31	0.234	0.285	0.418	1.263	0.723~2.207
加权模式	31	0.248	0.138	0.084	1.281	0.977~1.680

3 讨 论

关于“RA 是否导致 PH”或“PH 是否导致 RA”目前尚未有共性认识,CTDs 患者可出现不同形式的 PH,在疾病活动期炎症因子刺激肺动脉和小动脉的重塑和收缩,导致肺血管阻力增高,加剧 PH 病情的恶化,增加了疾病的诊疗难度^[20]。静息状态下右心导管术(right heart catheterization,RHC)是诊断 CTDs-PH 的“金标准”,但开展此项目的要求较高且为有创检查;自身抗体、炎症分子、血管活性介质等血清生物标志检测的创伤小可重复性强^[21],是检测 PH 的有效手段,但在治疗 RA 的过程中,免疫抑制剂、抗炎药物的使用对血清学结果影响不可控;基因学检测能提供支持,遗传变异能够排除混杂因素的影响,不受外在环境的干扰^[22-23]。本研究在筛选有效 SNPs 中发现 rs2013002、rs2476601、rs3114891、rs3128927、rs4129745 这 5 个工具变量具有统计学意义($P < 0.05$),可为基因谱的筛查提供参考。

有研究通过 RA 共病的形式揭示了 RA 高频合并症,包括间质性肺疾病、骨关节炎、骨质疏松、高血压等^[24],单纯 RA 患者 PH 的风险程度弱于 RA 共病患者的 PH 程度;有研究表明,RA 患者易发生右心衰竭、PH 等心血管疾病^[25],印证 RA 是 PH 的危险因素,亦有血清阴性 RA 重叠抗合成酶综合征继发 PH 病例报道^[26]佐证这一风险理论,且经 UVMR 分析发现 RA 与 PH 具有因果关系,提示在治疗 RA 的同时应同时兼顾肺部情况,如若合并肺系疾病应当减少复诊周期,重视胸部影像学和超声心动图检查,以期降低 PH 的发病率,延长 RA 的生存率,改善 RA 患者的生活质量。

本研究使用 UVUR 估计 RA 和 PH 风险的因果效应,SNPs 的筛选条件严格。本研究使用的数据库是基于暴露与结局之间的 GWAS 汇总数据,和观察性研究比较,SNPs 样本量大,试验设计更接近随机分配。但本研究也存在局限性:(1)本研究暴露与结局的人群单一,均是欧洲人群,对其他种族人群的适用性尚待分析;(2)本研究未进行年龄及性别层次的分析;(3)本研究仅进行了 CTDs 中 RA 的 MR 分析,其他 CTDs 仍有分析价值,但数据库来源缺乏,仍需进

一步的数据整合。

综上所述,RA 相关的 PH 报道多以横断面研究为主,且多以合并症的形式进行回顾性分析,较少涉及各自的因果关系,主要分析其相关性,未进行因果推断。UVMR 分析显示 RA 是 PH 的危险因素,表明在预防 PH 时,也应关注 RA 这一要素。在诊断 CTDs-PH 相关病症的同时,要进行合理的预后评估和及时干预,避免 PH 的早期隐匿,降低漏诊误诊风险。

参考文献

- [1] 中华医学会风湿病学分会. 2018 中国类风湿关节炎诊疗指南[J]. 中华内科杂志, 2018, 57(4): 242-251.
- [2] RADU A, BUNGAU S G. Management of rheumatoid arthritis: an overview[J]. Cells, 2021, 10(11): 2857.
- [3] 丁洋洋, 黄浩东, 赵晓阳, 等. 肺动脉高压研究相关进展[J]. 齐齐哈尔医学院学报, 2023, 44(18): 1760-1764.
- [4] 陈德阳, 李伟. 肺动脉高压的细胞炎症研究进展[J]. 中国分子心脏病学杂志, 2023, 23(3): 5456-5461.
- [5] GAINE S P, RUBIN L J. Primary pulmonary hypertension[J]. Lancet, 1998, 352(9129): 719-725.
- [6] 张萌, 万瑾, 何文, 等. 实时三维超声心动图联合斑点追踪技术评估结缔组织病患者右心室功能[J]. 中国临床医学影像杂志, 2023, 34(11): 776-780.
- [7] 肖作川. 心脏超声对肺动脉高压患者肺动脉压及右心功能的评估价值[J]. 医学信息, 2023, 36(24): 136-139.
- [8] LIN C Y, KO C H, HSU C Y, et al. Epidemiology and mortality of connective tissue disease-associated pulmonary arterial hypertension: a national cohort study in taiwan[J]. Semin Arthritis Rheum, 2020, 50(5): 957-962.
- [9] SHIRAI Y, YASUOKA H, OKANO Y, et al. Clinical characteristics and survival of Japanese patients with connective tissue disease and pulmonary arterial hypertension: a single-centre cohort[J]. Rheumatology, 2012, 51(10): 1846-1854.
- [10] 樊丽娟, 李闪闪, 王衍, 等. 结缔组织病相关肺动脉高压的临床特点及生存分析[J]. 郑州大学学

- 报(医学版),2022,57(5):609-615.
- [11] 杨金良,任占芬,罗寰,等. 结缔组织病相关肺动脉高压的临床特点及预后危险因素分析[J]. 重庆医科大学学报,2022,47(6):745-752.
- [12] HAO Y,JIANG X,ZHOU W,et al. Connective tissue disease-associated pulmonary arterial hypertension in Chinese patients[J]. *Eur Respir J*,2014,44(4):963-972.
- [13] SZTURMOWICZ M,FRANCZUK M,JEDR-YCH M E,et al. Dominating cause of pulmonary hypertension may change over time:diagnostic and therapeutic considerations in a patient with pulmonary hypertension due to rheumatoid arthritis with lung involvement[J]. *Diagnostics*,2021,11(10):1931.
- [14] 王玉琢,沈洪兵. 孟德尔随机化研究应用于因果推断的影响因素及其结果解读面临的挑战[J]. 中华流行病学杂志,2020,41(8):1231-1236.
- [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] 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.
- [17] BOWDEN J,DAVEY S 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.
- [18] BOWDEN J,DAVEY S 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.
- [19] HARTWIG F P,DAVEY S 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.
- [20] VONK M C,VANDECASTEELE E,VAN DIJK A P. Pulmonary hypertension in connective tissue diseases, new evidence and challenges [J]. *Eur J Clin Invest*,2021,51(4):e13453.
- [21] 辛昊洋,姜楠,张硕. 结缔组织病相关肺动脉高压的生物标志物研究进展[J]. 医学理论与实践,2023,36(23):3989-3991.
- [22] ZHENG J,BAIRD D,BORGES M,et al. Recent developments in Mendelian randomization studies [J]. *Curr Epidemiol Rep*,2017,4(4):330-345.
- [23] GALA H,TOMLINSON I. The use of Mendelian randomisation to identify causal cancer risk factors: promise and limitations [J]. *J Pathol*,2020,250(5):541-554.
- [24] KATZ J,BARTELS C M. Multimorbidity in rheumatoid arthritis:literature review and future directions[J]. *Current Rheumatology Reports*,2023,26(1):24-35.
- [25] ZEYNEP U,HAKAN T,ADIL B,et al. The importance of pulmonary pulse transit time in indicating right ventricular dysfunction and pulmonary arterial stiffness in rheumatoid arthritis[J]. *J Clin Ultrasound*,2023,51(8):1321-1328.
- [26] HUANG C Y,LU M J,TIAN J H,et al. Pulmonary hypertension secondary to seronegative rheumatoid arthritis overlapping antisynthetase syndrome:a case report[J]. *World J Clin Cases*,2022,10(27):9851-9858.

(收稿日期:2024-01-04 修回日期:2024-05-07)

(编辑:张芄捷)