

· 临床研究 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2024.21.006

网络首发 [https://link.cnki.net/urlid/50.1097.R.20240826.1349.008\(2024-08-26\)](https://link.cnki.net/urlid/50.1097.R.20240826.1349.008(2024-08-26))

基于孟德尔随机化的 COVID-19 重症与迟发性重症肌无力的关系研究*

张小凤,车明璐,阳李,张春青[△]

(陆军军医大学第二附属医院神经外科,重庆 400037)

[摘要] **目的** 基于孟德尔随机化(MR)探讨新型冠状病毒感染(COVID-19)易感、住院、重症与迟发性重症肌无力(LOMG)之间潜在的因果关系。**方法** 筛选非重叠全基因组关联研究公开数据,将 COVID-19 易感、住院、重症作为暴露数据,LOMG 作为结局数据,主要采用逆方差加权法(IVW)评估因果效应,辅以 MR-Egger 法、加权中位数法、加权模型、简单模型等方法,并进行敏感性分析。**结果** 遗传预测的 COVID-19 重症与 LOMG($OR=1.01,95\%CI=1.00\sim 1.03,P=0.046$)呈正向因果关系。敏感性分析结果显示,该研究结果稳健($P>0.05$),未发现异质性 or 水平多效性。**结论** COVID-19 重症可能与 LOMG 风险增加有关。

[关键词] 新型冠状病毒感染;迟发型重症肌无力;孟德尔随机化;全基因组关联研究;敏感性分析

[中图法分类号] R511 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2024)21-3228-05

Study on relationship between severe COVID-19 and delayed onset myasthenia gravis based on Mendelian randomization*

ZHANG Xiaofeng, CHE Minglu, YANG Li, ZHANG Chunqing[△]

(Department of Neurosurgery, the Second Affiliated Hospital of Army Medical University, Chongqing 400037, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the potential causal relationships between coronavirus disease-2019 (COVID-19) susceptibility, hospitalization and severe case with late-onset myasthenia gravis (LOMG) based on Mendelian randomization (MR). **Methods** The public data from non-overlapping genome-wide association studies were screened, COVID-19 susceptibility, hospitalization and severe case served as the exposure data, and LOMG as the outcome data. The inverse-variance weighted (IVW) method was mainly adopted to evaluate the causal effect, which was supplemented by the methods such as MR-Egger method, weighted median method, weighted model and simple model. The sensitivity analysis was performed. **Results** The genetically predicted severe case of COVID-19 had the positively causal relationship with LOMG ($OR=1.01,95\%CI:1.00-1.03,P=0.046$). The sensitivity analysis results revealed the study results were steady ($P>0.05$). No heterogeneity or horizontal pleiotropy was found. **Conclusion** Severe case of COVID-19 may be associated with an increased risk of LOMG.

[Key words] coronavirus disease-2019; late-onset myasthenia gravis; Mendelian randomization; genome-wide association study; sensitivity analyses

自 2019 年底以来,新型冠状病毒(severe acute respiratory syndrome coronavirus-2, SARS-CoV-2)迅速在全球范围内传播,造成了一场前所未有的公共卫生危机。该病毒不仅影响呼吸系统,还与多种神经系统疾病的发生有关^[1]。迟发性重症肌无力(late-onset myasthenia gravis, LOMG)是一种以肌肉无力为特征的自身免疫性疾病,主要影响眼肌和骨骼肌,其发病机制通常涉及抗体介导的神经传递障碍,具体是抗体攻击神经肌肉接头,阻断神经冲动的传递。虽然

LOMG 的患病率相对较低,但其对患者的生活质量造成的影响不容忽视^[2]。有研究表明,COVID-19 与较高的 LOMG 发生率相关^[3]。然而,这种关系的具体机制尚不明确,尤其是在遗传学层面上的相互作用还有待深入探究。

孟德尔随机化(Mendelian randomization, MR)提供了一种不受混杂因素干扰的研究手段^[4-6]。针对新型冠状病毒感染(coronavirus disease-2019, COVID-19)与 LOMG 的关系,MR 可以从遗传学的角度解

读二者的潜在联系,从而提供更加准确的因果推断。基于以上背景,本研究旨在运用两样本 MR,探讨 COVID-19 重症与 LOMG 之间的因果关系,为 COVID-19 和 LOMG 的临床治疗和预防提供更加深入的科学依据,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

COVID-19 易感和住院的遗传关联数据来自 *Eur J Hum Genet* 杂志,其中易感数据包括 30 562 例病例和 1 026 848 例对照,检测了 7 750 967 个单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphisms, SNP)位点;住院数据包括 9 986 例病例和 1 877 682 例对照,检测了 8 107 040 个 SNP 位点,PubMed ID 为 32404885。COVID-19 重症的遗传关联数据来自 *Nature* 杂志,包括 2 244 个病例和 20 032 例对照,检测了 2 903 640 个 SNP 位点,PubMed ID 为 33307546。LOMG 的遗传关联数据来自 IEU open gwas project (<https://gwas.mrcieu.ac.uk/>),包括 1 278 例病例和 33 652 例对照,检测了 22 357 218 个 SNP 位点,PubMed ID 为 35074870。以上所有数据来自自己发表的公开全基因组关联研究(genome-wide association studies, GWAS)数据。

1.2 方法

1.2.1 MR 研究 3 个假设

主要采用逆方差加权法(inverse-variance weighted, IVW)推断暴露与结局间的因果效应。在分析中,将 COVID-19 易感、住院、重症作为暴露因素,利用与其显著相关的 SNP 作为工具变量,而 LOMG 则作为结局变量。MR 研究必须建立在 3 个主要假设的基础上:假设 1 为相关性假设,假设 2 为独立性假设,假设 3 为排他性假设,见图 1。

1.2.2 工具变量的选择

为满足相关性假设,选择与 COVID-19 具有全基因组显著性的遗传变异 SNP 位点进行汇集($P < 5 \times 10^{-8}$)。为了消除连锁不平衡关系的偏倚影响,设置参数($r^2 = 0.001, kb = 10\ 000$),确保筛选出的 SNP 之间相互独立。如果某个 SNP 与混杂因素及结局变量相关($P < 0.001$),则将其剔除。合并暴露与结局数据集并剔除回文,得到后续 MR 分析的工具变量。

1.2.3 MR 分析

在 MR 分析中,采用 IVW 作为主要结果分析方法。

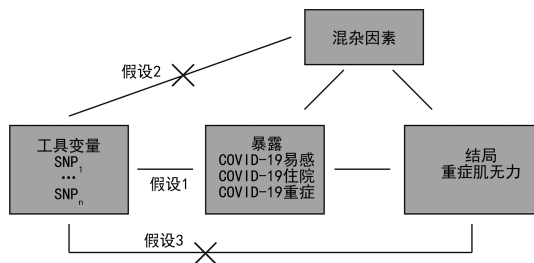


图 1 MR 研究 3 个假设的示意图

1.2.4 敏感性分析

敏感性分析通过 Cochran's Q 检验评估异质性, $P > 0.05$ 表示 SNP 间无异质性;MR-Egger 检验水平多效性, $P > 0.05$ 表示研究中无水平多效性;采用留一法进行敏感性分析,观察单个 SNP 对因果关系的影响程度。

1.2.5 观察指标

COVID-19 易感、住院、重症对 LOMG 的因果关系,并通过敏感性分析验证结果的可靠性。

1.3 统计学处理

采用 R4.3.1 进行数据分析,计数资料以例数或百分比表示,比值比(odds ratio, OR)和 95%CI 报告效应估计值,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 工具变量的结果

通过计算 F 值发现 COVID-19 易感、住院、重症每个 SNP 的 F 值均大于 10,表明 COVID-19 易感、住院、重症与 LOMG 相关表型受到弱工具变量偏倚影响的可能性较小。结合暴露与结局数据集,删除回文序列,最终确定了用于分析的 SNP。

2.2 COVID-19 易感、住院、重症与 LOMG 的因果关联

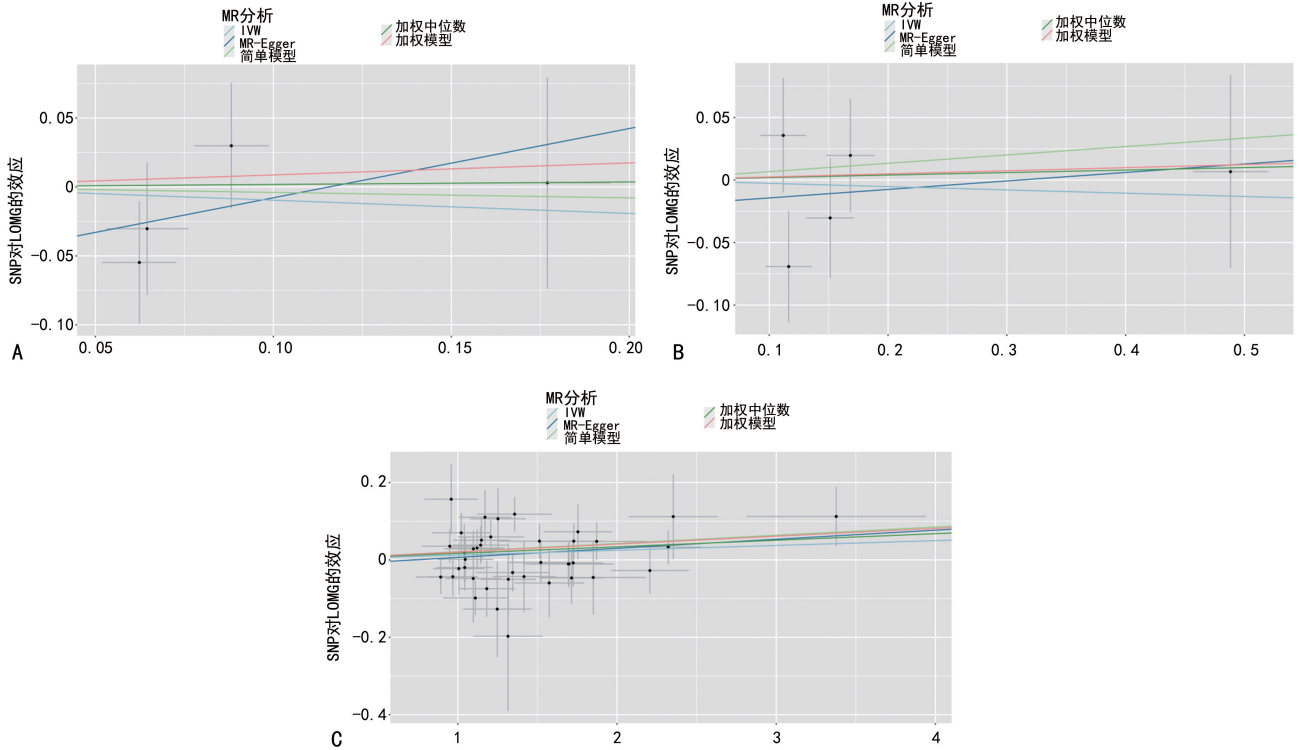
通过 IVW 进行因果分析,结果显示 COVID-19 易感与 LOMG、COVID-19 住院与 LOMG 无因果关联,COVID-19 重症与 LOMG 之间存在因果关联,且从遗传学角度提示 COVID-19 重症是 LOMG 的危险因素,见表 1、图 2。

表 1 COVID-19 易感、住院、重症对 LOMG 的 MR 结果

暴露	结局	SNP(n)	方法	β	OR(95%CI)	P
COVID-19 易感	LOMG	4	MR Egger	0.502	1.65(0.40~6.91)	0.562
			加权中位数	0.018	1.02(0.52~1.99)	0.958
			IVW	-0.096	0.91(0.53~1.57)	0.730
			简单模型	-0.040		0.937
			加权模型	0.087		0.843
COVID-19 住院	LOMG	5	MR Egger	0.068	1.07(0.68~1.70)	0.791
			加权中位数	0.020	1.02(0.79~1.33)	0.881

续表 1 COVID-19 易感、住院、重症对 LOMG 的 MR 结果

暴露	结局	SNP(n)	方法	β	OR(95%CI)	P
COVID-19 重症	LOMG	5	IVW	-0.026	0.97(0.78~1.22)	0.818
		5	简单模型	0.067		0.740
		5	加权模型	0.025		0.881
		40	MR Egger	0.023	1.02(0.98~1.07)	0.254
		40	加权中位数	0.017	1.02(0.99~1.04)	0.071
		40	IVW	0.012	1.01(1.00~1.03)	0.046
		40	简单模型	0.021		0.215
		40	加权模型	0.020		0.087



A:SNP 对 COVID-19 易感的效应;B:SNP 对 COVID-19 住院的效应;C:SNP 对 COVID-19 重症的效应。

图 2 MR 分析结果

2.3 敏感性分析结果

通过 Cochran’s Q 检验显示 COVID-19 易感、住院和重症的 SNP 之间均不存在潜在异质性(COVID-19 易感: $P=0.463$;COVID-19 住院: $P=0.522$;COVID-19 重症: $P=0.507$)。经过 MR-Egger 分析,未检测到潜在的水平多效性(COVID-19 易感: $P=0.672$;COVID-19 住院: $P=0.469$;COVID-19 重症: $P=0.571$),表明本研究符合 MR 核心假设。留一法敏感性分析显示结果稳健,不存在个别 SNP 对整体因果估计产生影响,见表 2~4。

表 2 单个 SNP 分析 COVID-19 易感对 LOMG 的贡献[OR(95%CI)]

SNP	MR-Egger 分析	留一法敏感性分析
rs612169	0.37(-0.69~1.39)	-0.04(-0.64~0.53)
rs35508621	0.03(-0.81~0.88)	-0.20(-0.91~0.56)
rs2109069	-0.48(-1.94~0.99)	-0.27(-0.92~0.35)
rs10774671	-0.87(-2.25~0.53)	0.04(-0.54~0.67)

表 3 单个 SNP 分析 COVID-19 住院对 LOMG 的贡献[OR(95%CI)]

SNP	MR-Egger 分析	留一法敏感性分析
rs505922	0.29(-0.49~1.10)	-0.06(-0.28~0.19)
rs13050728	0.12(-0.41~0.62)	-0.06(-0.31~0.20)
rs35081325	0.01(-0.26~0.29)	-0.07(-0.42~0.28)
rs2109069	-0.23(-0.81~0.41)	<0.01(-0.25~0.24)
rs2660	-0.59(-1.31~0.18)	0.03(-0.20~0.27)

表 4 单个 SNP 分析 COVID-19 重症对 LOMG 的贡献[OR(95%CI)]

SNP	MR-Egger 分析	留一法敏感性分析
rs13314348	0.10(-0.02~0.21)	0.01(<0.01~0.02)
rs10915756	0.09(0.03~0.15)	0.01(<0.01~0.02)
rs6895966	0.08(-0.03~0.21)	0.01(<0.01~0.02)
rs55777651	0.07(-0.02~0.16)	0.01(<0.01~0.02)
rs7775024	0.05(-0.03~0.12)	0.01(<0.01~0.02)

续表 4 单个 SNP 分析 COVID-19 重症对 LOMG 的贡献[OR(95%CI)]

SNP	MR-Egger 分析	留一法敏感性分析
rs2349623	0.05(-0.04~0.13)	0.01(<0.01~0.02)
rs331537	0.04(-0.05~0.13)	0.01(<0.01~0.02)
rs7087055	0.04(-0.03~0.12)	0.01(<0.01~0.02)
rs34779602	0.03(-0.05~0.13)	0.01(<0.01~0.02)
rs10050803	0.03(-0.05~0.11)	0.01(<0.01~0.02)
rs1471696	0.03(-0.01~0.08)	0.01(<0.01~0.02)
rs112535944	0.03(-0.02~0.09)	0.01(<0.01~0.02)
rs2665975	0.03(-0.02~0.08)	0.01(<0.01~0.02)
rs42377	0.03(-0.06~0.11)	0.01(<0.01~0.02)
rs1460236	0.03(-0.06~0.11)	0.01(<0.01~0.02)
rs356224	0.03(-0.02~0.07)	0.01(<0.01~0.02)
rs6019089	0.02(-0.12~0.16)	0.01(<0.01~0.02)
rs10881686	0.01(-0.02~0.05)	0.01(<0.01~0.02)
rs7239632	<0.01(-0.11~0.11)	0.01(<0.01~0.03)
rs2010370	<0.01(-0.07~0.07)	0.01(<0.01~0.03)
rs4954167	<0.01(-0.07~0.07)	0.01(<0.01~0.03)
rs622568	<0.01(-0.07~0.07)	0.01(<0.01~0.03)
rs74172478	<0.01(-0.07~0.07)	0.01(<0.01~0.03)
rs1805334	<0.01(-0.06~0.06)	0.01(<0.01~0.03)
rs3020393	-0.01(-0.06~0.04)	0.01(<0.01~0.03)
rs8081219	-0.01(-0.13~0.09)	0.01(<0.01~0.03)
rs63732460	-0.02(-0.16~0.11)	0.01(<0.01~0.03)
rs1153847	-0.02(-0.10~0.04)	0.01(<0.01~0.03)
rs72621436	-0.02(-0.13~0.08)	0.01(<0.01~0.03)
rs12205816	-0.03(-0.10~0.05)	0.01(<0.01~0.03)
rs11241420	-0.03(-0.16~0.10)	0.01(<0.01~0.03)
rs115833473	-0.04(-0.15~0.08)	0.01(<0.01~0.03)
rs6766793	-0.04(-0.18~0.10)	0.01(<0.01~0.03)
rs28419654	-0.04(-0.25~0.16)	0.01(<0.01~0.03)
rs391612	-0.04(-0.15~0.05)	0.01(<0.01~0.03)
rs111067724	-0.05(-0.15~0.05)	0.01(<0.01~0.03)
rs7862050	-0.06(-0.19~0.06)	0.01(<0.01~0.03)
rs6890693	-0.09(-0.17~-0.01)	0.02(<0.01~0.03)
rs2182565	-0.10(-0.16~0.09)	0.01(<0.01~0.03)
rs60083472	-0.15(-0.44~0.13)	0.01(<0.01~0.03)

3 讨 论

研究表明,COVID-19 患者中有相当比例出现了神经系统症状,如头痛、味觉和嗅觉丧失等,这揭示了 COVID-19 与神经系统之间可能存在复杂的相互作用机制^[7-8]。QIDWAI^[9] 研究表明,COVID-19 患者炎症因子水平高于健康人,特别是在重症监护室(ICU)内的患者,ICU 患者可能在短时间内发生细胞因子风暴加深病情,导致免疫异常反应,引发神经免疫性疾病的发展,提示重症 COVID-19 患者有神经免疫性疾病发生的风险。

近年来,越来越多的证据开始揭示 COVID-19 与 LOMG 之间的潜在关联^[10]。RESTIVO 等^[11] 进行的

一项研究描述了 3 个属于高风险老年人群体的病例,从出现 COVID-19 症状至出现重症肌无力症状的时间框架与其他神经系统疾病的情况一致,如吉兰-巴雷综合征。这是首次报道 COVID-19 后出现重症肌无力的病例。另一项系统综述显示,有 6 项关于 COVID-19 后新发 LOMG 的研究,结果提示乙酰胆碱受体与 SARS-CoV-2 受体的结构相似,潜伏性自身免疫感染再激活及儿童多系统炎症综合征等超免疫反应是其可能的解释^[12]。

本研究首次揭示了一种遗传学上的联系,即 COVID-19 的重症形式与 LOMG 的风险之间呈正相关,结果未显示异质性和多效性,这一发现提升了本研究结果的可信度。值得注意的是,尽管 COVID-19 重症患者中 LOMG 的增加风险相对较小(约 1%),但鉴于 COVID-19 的广泛性,这一发现依然具有重要的公共卫生意义,这对于深入理解这些复杂疾病的联系至关重要。

在探索 SARS-CoV-2 与神经系统疾病之间的联系时,已有研究指出,该病毒能侵入神经系统,引发细胞因子风暴和免疫失调^[13-14],这些都是神经系统疾病的已知危险因素^[15-16]。研究人员推测,乙酰胆碱受体和 SARS-CoV-2 蛋白之间潜在的分子模仿导致感染后 LOMG 的发生^[17-18],但乙酰胆碱受体亚基与 SARS-CoV-2 蛋白之间没有明显的结构匹配^[19]。尽管这些假设试图解释 COVID-19 与 LOMG 之间的因果关系,但在已有的研究中,它们更多的是偶然的,不能排除 MR 分析中的偏差,但广泛的敏感性分析使这种情况极不可能发生。

此外,最近的病例报道和系列研究发现,COVID-19 后 LOMG 的发病具有明确的时间序列关联^[20-23],这些观察结果提示了可能存在的关联,尽管不能完全排除巧合的可能性。近期的队列研究也显示了 COVID-19 与 LOMG 发生风险增加之间的联系^[24]。

本研究具有若干优势:(1)利用了广泛的公开 GWAS 数据来评估 COVID-19 与 LOMG 之间的关系;(2)MR 分析的运用最大限度地减少了混杂偏差和潜在的反向因果关系;(3)通过广泛的敏感性分析,加强了 MR 估计的稳定性和一致性。然而,也存在一些局限性,如基因数据主要来自欧洲人群,这可能限制了结果的普适性。此外,部分 LOMG 患者携带的是 MuSK 和/或 LRP4 抗体而非乙酰胆碱受体抗体,这些亚组之间的关系仍不明确^[25-27]。因此,需要进一步的 GWAS 研究来验证这些关系,且在解释目前的结果时应保持谨慎。

综上所述,本研究提供了 COVID-19 重症与 LOMG 之间存在遗传关联或因果关系的初步证据。这一发现提示,在重症 COVID-19 患者中,可能存在增加的神经免疫性疾病风险,特别是 LOMG。本研究的发现为进一步探讨 COVID-19 对神经免疫系统影

响提供了新的视角,未来的 GWAS 研究可评估 COVID-19 表型与 LOMG 及其亚型之间的具体关系。

参考文献

- [1] MENDONCA FILHO V C M, DE OLIVEIRA A G, MAIA I, et al. COVID-19 in the nervous system: physiopathology and neurological manifestations [J]. *Arq Neuropsiquiatr*, 2023, 81(8):756-763.
- [2] WU X, LI R Y, YE X B, et al. Reduced quality of life in myasthenia gravis patients: a study on 185 patients from China [J]. *Front Neurol*, 2023, 13:1072861.
- [3] TAYEBI A H, SAMIMISEDEH P, JAFARI AF-SHAR E, et al. Clinical features and outcomes of Myasthenia Gravis associated with COVID-19 vaccines: a systematic review and pooled analysis [J]. *Medicine*, 2023, 102(40):e34890.
- [4] SUN D, TU L, WANG X, et al. Association between COVID-19 and myasthenia gravis (MG): a genetic correlation and Mendelian randomization study [J]. *Brain Behav*, 2023, 13(11):e3239.
- [5] 缪嘉燕, 钱雅婷, 王一泉, 等. 基于孟德尔随机化的类风湿性关节炎及其血清抗体水平与子痫前期的因果关系分析 [J]. *重庆医学*, 2024, 53(9):1289-1294.
- [6] 王勇, 姚晓玲, 凌益, 等. 基于孟德尔随机化分析探讨类风湿性关节炎与肺动脉高压的因果关系 [J]. *重庆医学*, 2024, 53(16):2432-2437.
- [7] SAMPAIO ROCHA-FILHO P A. Headache associated with COVID-19: epidemiology, characteristics, pathophysiology, and management [J]. *Headache*, 2022, 62(6):650-656.
- [8] WANG J, LIU R, MA H, et al. The pathogenesis of COVID-19-related taste disorder and treatments [J]. *J Dent Res*, 2023, 102(11):1191-1198.
- [9] QIDWAI T. Cytokine storm in COVID-19 and malaria: annals of pro-inflammatory cytokines [J]. *Cytokine*, 2024, 173:156420.
- [10] POPESCU C. Spontaneously resolving late-onset ocular myasthenia related to COVID-19: a case report [J]. *Acta Myol*, 2023, 42(2):89-91.
- [11] RESTIVO D A, CENTONZE D, ALESINA A, et al. Myasthenia gravis associated with SARS-CoV-2 infection [J]. *Ann Intern Med*, 2020, 173(12):1027-1028.
- [12] OUSSEIRAN Z H, FARES Y, CHAMOUN W T. Neurological manifestations of COVID-19: a systematic review and detailed comprehension [J]. *Int J Neurosci*, 2023, 133(7):754-769.
- [13] ISMAIL I I, SALAMA S. Association of CNS demyelination and COVID-19 infection: an updated systematic review [J]. *J Neurol*, 2022, 269(2):541-576.
- [14] ISMAIL I I, SALAMA S. A systematic review of cases of CNS demyelination following COVID-19 vaccination [J]. *J Neuroimmunol*, 2022, 362:577765.
- [15] AGHAGOLI G, GALLO MARIN B, KATCHUR N J, et al. Neurological involvement in COVID-19 and potential mechanisms: a review [J]. *Neurocrit Care*, 2021, 34(3):1062-1071.
- [16] HARAPAN B N, YOO H J. Neurological symptoms, manifestations, and complications associated with severe acute respiratory syndrome coronavirus-2 (SARS-CoV-2) and coronavirus disease-19 (COVID-19) [J]. *J Neurol*, 2021, 268(9):3059-3071.
- [17] ASSINI A, GANDOGLIA I, DAMATO V, et al. Myasthenia gravis associated with anti-MuSK antibodies developed after SARS-CoV-2 infection [J]. *Eur J Neurol*, 2021, 28(10):3537-3539.
- [18] TERESHKO Y, VIOTTO C, LETTIERI C, et al. Subclinical finding in the perception of tactile sensation involvement after SARS-CoV2 infection: comparison with healthy controls using Semmes-Weinstein monofilament testing [J]. *Front Neurol*, 2023, 14:1275063.
- [19] MUHAMMED Y, YUSUF NADABO A, PIUS M, et al. SARS-CoV-2 spike protein and RNA dependent RNA polymerase as targets for drug and vaccine development: a review [J]. *Biosaf Health*, 2021, 3(5):249-263.
- [20] CHAVEZ A, POUIGNIER C. A case of COVID-19 vaccine associated new diagnosis myasthenia gravis [J]. *J Prim Care Community Health*, 2021, 12:21501327211051933.
- [21] FANELLA G, BAIATA C, CANDELORO E, et al. New-onset myasthenia gravis after mRNA SARS-CoV-2 vaccination: a case series [J]. *Neurol Sci*, 2022, 43(10):5799-5802.
- [22] SRIWASTAVA S, SHRESTHA A K, KHALID S H, et al. Spectrum of neuroimaging findings in post-COVID-19 vaccination: a case series and review of literature [J]. *Neurol Int*, 2021, 13(4):622-639.