

基于孟德尔随机化分析躯干及下肢脂肪量与椎间盘退变的因果关系

杨敬言¹, 马 涉¹, 黄仁俊¹, 王超逸¹, 赵余炀¹, 于 栋²

https://doi.org/10.12307/2024.825

投稿日期: 2023-12-04

采用日期: 2024-01-04

修回日期: 2024-01-26

在线日期: 2024-02-18

中图分类号:

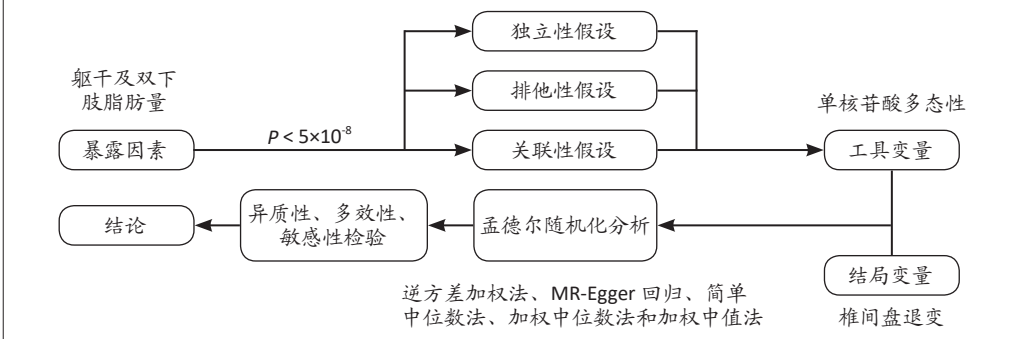
R459.9; R319; R681.5+3

文章编号:

2095-4344(2024)35-05688-07

文献标识码: A

文章快速阅读: 躯干及下肢脂肪量与椎间盘退变的因果关系



文题释义:

孟德尔随机化: 是一种以遗传变异为工具变量, 遵循孟德尔定律, 即相应的等位基因在胚胎形成时期随机分配且固定的原则, 排除混杂因素对结果的影响, 加强了因果推断证据强度的研究方法。

椎间盘退变: 椎间盘是一种由髓核、纤维环、终板软骨构成的组织, 位于两个相邻椎体间, 连接上下椎体。致病因素长期的影响下可能导致椎间盘水分丢失、结构破坏及承载能力下降, 从而出现退行性变。

摘要

背景: 近期观察性研究发现局部脂肪量对于椎间盘退变评估有重要意义, 而肥胖长期被认为是椎间盘退变的危险因素之一, 作为肥胖核心因素的脂肪量在既往研究与椎间盘退变的因果关系尚不明确。

目的: 探讨不同分布的脂肪量与椎间盘退变的因果关系, 以帮助增加对椎间盘退变发病机制的认知及制定预防、治疗及预后的策略。

方法: 从公开发表的IEU Open GWAS中以强相关性及满足连锁不平衡为条件提取躯干及下肢脂肪量的遗传位点作为工具变量, 结合FinnGen最新第9版数据库选取椎间盘退变作为结局进行孟德尔随机化分析, 通过逆方差加权法、MR-Egger回归、简单中位数法、加权中位数法和加权中值法等回归模型的OR值和95%CI评估躯干及下肢脂肪量与椎间盘退变间的因果关系。使用Cochran's Q检验评估遗传工具变量的异质性, 使用MR-Egger截距检验评估多效性, 使用留一法评估作为工具变量的单核苷酸多态性对暴露和结局因果关系影响的敏感性。

结果与结论: ①逆方差加权法检测结果显示, 躯干脂肪量与椎间盘退变发病风险呈正向因果关联($OR=1.25$, $95\%CI: 1.15-1.35$, $P < 0.001$), 双下肢脂肪量与椎间盘退变发病风险呈反向因果关联($OR=0.7$, $95\%CI: 0.63-0.78$, $P < 0.001$; $OR=0.69$, $95\%CI: 0.62-0.76$, $P < 0.001$); ②MR-Egger截距分析未检测到潜在的水平多效性; ③MR-PRESSO未检测到偏离单核苷酸多态性, 异质性检验存在, 留一法敏感性分析提示分析结果可靠; ④上述结果证实, 躯干脂肪量与椎间盘退变有正向因果关系, 随着躯干脂肪量增加, 椎间盘退变的危险升高; 双下肢脂肪量与椎间盘退变有反向因果关系, 即随着双下肢脂肪量增加, 椎间盘退变风险降低; 脂肪的含量及分布会影响椎间盘退变的发病风险, 应给予更多的关注。

关键词: 全基因组关联研究; 孟德尔随机化; 椎间盘退变; 脂肪量; 逆方差加权法; 敏感性分析; 单核苷酸多态性; 因果关系

Causal relationship between trunk and lower limb fat mass and intervertebral disc degeneration based on a Mendelian randomization analysis

Yang Jingyan¹, Ma She¹, Huang Renjun¹, Wang Chaoyi¹, Zhao Yuyang¹, Yu Dong²

¹The Third Clinical School of Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China; ²The Third Clinical Hospital of Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China

Yang Jingyan, Master candidate, The Third Clinical School of Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China

Corresponding author: Yu Dong, MD, Chief physician, Master's supervisor, The Third Clinical Hospital of Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China

Abstract

BACKGROUND: It has been found in recent observational studies that assessing localized fat mass is crucial in the evaluation of disc degeneration. Although obesity has been recognized as a risk factor for disc degeneration, the causal relationship between fat mass, which is a key factor in obesity, and intervertebral disc degeneration has been unclear in previous studies.

¹北京中医药大学第三临床医学院, 北京市 100029; ²北京中医药大学第三附属医院, 北京市 100029

第一作者: 杨敬言, 男, 1999年生, 山西省太原市人, 汉族, 北京中医药大学在读硕士, 主要从事中医骨伤科学方面的研究。

通讯作者: 于栋, 博士, 主任医师, 硕士生导师, 北京中医药大学第三附属医院脊柱科, 北京市 100029

https://orcid.org/0009-0004-4123-2841(杨敬言)

基金资助: 北京中医药大学第三附属医院 2022 年度“中医骨伤治疗与运动康复智能化”教育部工程研究中心培育项目 (BZYSY-2022-GCYJZXQX-08), 项目负责人: 于栋

引用本文: 杨敬言, 马涉, 黄仁俊, 王超逸, 赵余炀, 于栋. 基于孟德尔随机化分析躯干及下肢脂肪量与椎间盘退变的因果关系 [J]. 中国组织工程研究, 2024, 28(35):5688-5694.



OBJECTIVE: To investigate the causal risk factors of intervertebral disc degeneration associated with different distributions of fat mass, thereby enhancing the understanding of the pathogenesis of intervertebral disc degeneration and contributing to the development of preventive, therapeutic, and prognostic strategies.

METHODS: Genetic markers associated with trunk and lower limb fat mass were extracted as instrumental variables from the publicly available IEU Open GWAS under the conditions of strong correlation and fulfillment of linkage disequilibrium. These markers were combined with the Mendelian randomization analysis to investigate the relationship between body fat and intervertebral disc degeneration. We used the latest version 9 database of FinnGen and assessed the results using several regression models, including inverse variance weighting, MR-Egger regression, simple mode, weighted mode, and weighted median estimator. We also assessed the heterogeneity of the genetic markers using Cochran's Q test, and multiplicity was assessed using the MR-Egger intercept test. Additionally, we used the leave-one-out method to determine the sensitivity of individual genetic markers to the causal effect of the exposure and outcome. The results were presented as odds ratios (OR) and 95% confidence intervals (CI).

RESULTS AND CONCLUSION: The results from the inverse variance weighting method revealed that there was a positive causal relationship between trunk fat mass and the risk of developing intervertebral disc degeneration (OR=1.25, 95% CI: 1.15–1.35, $P < 0.001$). Additionally, there was an inverse causal relationship between bilateral lower limb fat mass and the risk of developing intervertebral disc degeneration (OR=0.7, 95% CI: 0.63–0.78, $P < 0.001$; OR=0.69, 95% CI: 0.62–0.76, $P < 0.001$). Furthermore, the MR-Egger intercept analysis did not detect any potential horizontal pleiotropy. No bias single nucleotide polymorphisms were detected, while heterogeneity tests were present, and the leave-one-out sensitivity analysis suggested reliable results. The results above demonstrate a positive causal relationship between trunk fat mass and intervertebral disc degeneration. As trunk fat mass increases, the risk of intervertebral disc degeneration rises. With an increase in both lower limb fat mass, the risk of intervertebral disc degeneration decreases. Fat content and distribution affects the risk of developing intervertebral disc degeneration and should be given more attention.

Key words: genome-wide association study; Mendelian randomization; intervertebral disc degeneration; fat mass; inverse variance weighting method; sensitivity analysis; single nucleotide polymorphism; causality

Funding: 2022 Cultivation Project of the Ministry of Education Engineering Research Center for "Intelligent Treatment of Traditional Chinese Medicine Orthopaedic Injury and Sports Rehabilitation," The Third Affiliated Hospital of Beijing University of Chinese Medicine, No. BZYSY-2022-GCYJZXQX-08 (to YD)

How to cite this article: YANG JY, MA S, HUANG RJ, WANG CY, ZHAO YY, YU D. Causal relationship between trunk and lower limb fat mass and intervertebral disc degeneration based on a Mendelian randomization analysis. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu*. 2024;28(35):5688-5694.

0 引言 Introduction

近年来腰痛的发生率逐年升高，逐渐普遍化、年轻化，对人们的工作与生活造成了很大困扰^[1-2]。目前主流研究观点认为，造成该疾病的主要原因是脊柱的退行性变；与腰椎间盘突出症和腰椎管狭窄症相同，它们的主要病理基础是椎间盘的老化和退变，从而逐渐丧失原本的功能^[3]。椎间盘作为一种纤维软骨结构，主要由中心的髓核、外周的纤维环及上下椎体的软骨终板构成，它位于相邻椎体之间，连接上下椎体，与周围的关节、韧带等结构形成腰椎的活动节段^[4-5]。椎间盘退变一般被认为与遗传因素、衰老退变、吸烟、肥胖和长期机械载荷等因素有关。肥胖作为椎间盘退变的主要致病因素之一^[6]，其机制的研究主要围绕脂肪干相应部位的脂肪浸润与过度应力、释放的脂肪因子造成的影响等方向展开。人类的直立行走意味着椎间盘要承受拉伸力、压力和流体剪切力等负荷，而过度肥胖等因素带来的体质量增高、长期的劳损必然引起椎间盘的损伤及相邻结构的紊乱，造成生物力学上的平衡失调，最终导致相应的临床症状。有研究表明，脂肪组织释放的瘦素和脂联素等脂肪细胞因子也是诱导椎间盘退变代谢、炎症反应的关键因素^[7-8]，在椎间盘组织中，它们的异常表达导致了初始炎症环境及代谢紊乱，是重要的致病途径^[9]。

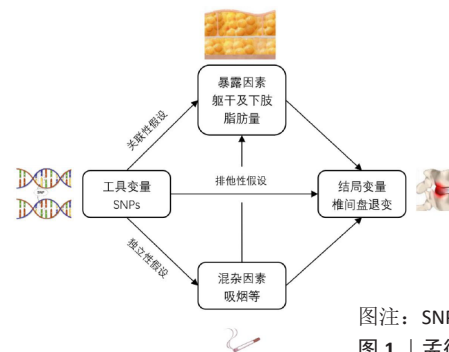
脂肪量广泛应用于评估各类疾病的发病风险，但作为身体质量指数的强相关因素之一，用于椎间盘退变的报道较少。近期有研究证实，局部脂肪的厚度可以作为腰痛与脊柱退行性变的可靠分析工具^[10]，可以更直观地作为肥胖程度的标志物。WANG等^[11]通过腰椎磁共振成像对比身体质量指数、腹径及矢状腹径等与 Pfirrmann 分级后的椎间盘退变后发现较身体质量指数而言，腹部脂肪量作为判断工具，对于评估椎间盘退变患者的退变程度更加可靠，说明除脂肪量本身外，脂肪的不同分布也会对人体造成不同的影响，但明确的因果关系仍有待探究。

在研究致病因素及疾病风险时，随机对照试验具有较高的参考意义，但受限于多种临床因素无法普遍展开。而孟德尔随机化 (Mendelian randomization, MR) 是一种以遗传变异为工具变量^[12]，遵循孟德尔定律，即相应的等位基因在胚胎形成时期随机分配且固定的原则，排除混杂因素对结果的影响，从而加强了因果推断证据强度的研究方法^[13-14]，可达到模拟随机对照试验的目的^[15]。结合临床与孟德尔研究的特点，该研究排除全身脂肪量与上肢脂肪量，选取躯干及双下肢脂肪量和椎间盘退变作为样本进行孟德尔随机化的研究，以明确不同分布的脂肪量与椎间盘退变之间存在的因果关系。

1 资料和方法 Data and methods

1.1 设计 该研究将椎间盘退变作为结局变量，选取与躯干及双下肢脂肪量中显著相关的单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphism, SNP) 作为工具变量，使用孟德尔随机化分析的方法进行暴露因素与结局

变量间的因果关联分析。为验证结果可靠性，采用异质性检验、敏感性分析、多效性分析来排除结果偏倚^[16]。文章采用了以下3个关键假设确保孟德尔随机化分析的可靠性^[17-18]：①关联性假设：工具变量与暴露因素之间是强相关的；②独立性假设：工具变量与暴露因素、结局变量有关的任何混杂因素之间是独立的；③排他性假设：工具变量只能通过暴露因素对结局产生影响，见图1。



图注：SNPs 为单核苷酸多态性。
图1 | 孟德尔随机化设计的假设图

1.2 时间及地点 数据收集及分析于2023年9-11月在北京中医药大学完成。

1.3 资料

1.3.1 生物信息数据库及分析工具 主要包括英国生物样本库 IEU Open GWAS(<https://gwas.mrcieu.ac.uk>)，芬兰数据库 The FinnGen Biobank (<https://www.finnngen.fi/en>) 和 PhenoScanner 数据库 (<http://www.phenoscaner.medschl.cam.ac.uk>)。分析工具主要包括 R 包 4.3.0 版本、Mendelian Randomization 0.7.0 软件包和 TwoSample MR 0.5.6 软件包。

1.3.2 暴露数据 通过 IEU GWAS 数据库分别获得躯干、双下肢脂肪量的遗传数据。其中左下肢脂肪量与右下肢脂肪量的数据均来源于尼尔实验室 (Neale lab) 2017 年的 GWAS 研究，左下肢脂肪量数据集的样本量为 331 275，SNP 数量为 10 894 596；右下肢脂肪量数据集的样本量为 331 293，SNP 数量为 10 894 596。躯干脂肪量的数据来源于 MRC 综合流行病学研究所 2018 年公布的 GWAS 荟萃分析，样本量为 454 588，SNP 数量为 9 861 867。数据细节见表 1。

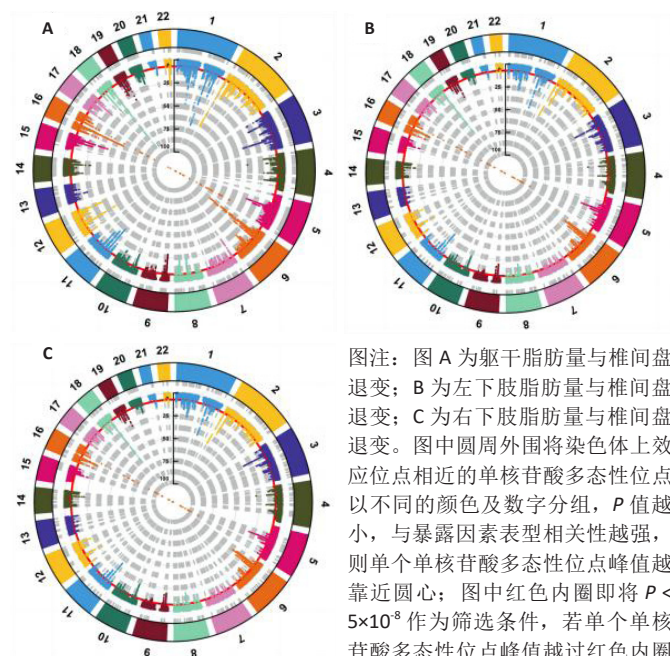
1.3.3 结局数据 椎间盘退变的遗传数据来自芬兰数据库最新第 9 版生物样本库，该数据库收集并分析了来自 50 万芬兰参与者的基因组和健康数据，椎间盘退变数据集包括 184 683 名欧洲人 (20 001 例患者和 164 682 名健康对照者)，SNP 数量为 16 380 337。该研究使用数据均来自公开发表的研究与数据库，其中已提供伦理批准与知情同意，不再要求额外伦理审查。数据细节见表 1。

表 1 | 孟德尔随机化研究中的全基因组关联分析数据汇总信息

暴露或结局	数据来源网址	全基因组关联分析数据 ID 号	样本种族来源	单核苷酸多态性的个数	样本量	数据来源联盟	数据公布年份
躯干脂肪量	https://gwas.mrcieu.ac.uk/	ukb-b-20044	欧洲	9 851 867	454 588	MRC-IEU	2018
左下肢脂肪量	https://gwas.mrcieu.ac.uk/	ukb-a-279	欧洲	10 894 596	331 275	Neale lab	2017
右下肢脂肪量	https://gwas.mrcieu.ac.uk/	ukb-a-275	欧洲	10 894 596	331 293	Neale lab	2017
椎间盘退变	https://www.finnngen.fi/en/access_results	finngen_R9_M13_INTERVERTEB	欧洲	16 380 337	184 683	FinnGen Biobank	2021

1.4 方法

1.4.1 工具变量 首先,为满足关联性假设,即选取的工具变量与暴露因素之间是强相关的,该研究以 $P < 5 \times 10^{-8}$ 为条件筛选全基因组差异显著的 SNP,见图 2,并使用 clumped 函数去除连锁不平衡 ($r^2 < 0.001$, 10 000 kb) 的 SNP。其次,为满足独立性假设,选取的工具变量需排除其他与暴露因素、结局变量有关联的混杂因素,该研究经查阅文献在 Phenoscanner 数据库手动筛选排除其他与混杂因素及椎间盘退变相关联的 SNP^[19]。最后,为满足排他性假设及减少弱工具变量偏差,该研究以 $F = [R^2 \times (N-1-K)] / [K \times (1-R^2)]$ 为公式过滤 F 值 < 10 的弱工具变量^[20-22],其中 N 为暴露因素 GWAS 研究中的样本量, K 为筛选后作为工具变量的 SNP 的个数, R^2 表示暴露数据库中由 SNPs 解释的变异占比, $R^2 = 2 \times EAF \times (1-EAF) \times \beta^2$,其中 EAF 为突变的基因频率^[23], β 为等位基因效应值^[24-25]。使用 MR-Egger 回归对 SNP 进行多效性检测,若 $P < 0.05$ 则提示存在多效性,该 SNP 不符合工具变量的要求^[26-27]。随后进行孟德尔随机化多效残差和离群值 (pleiotropy residual sum and outlier, PRESSO) 用于测试和调整水平多效性的异常值,剔除工具变量中离群值。最终得出经过严格筛选后用于孟德尔随机化分析的工具变量。



图注: 图 A 为躯干脂肪量与椎间盘退变; B 为左下肢脂肪量与椎间盘退变; C 为右下肢脂肪量与椎间盘退变。图中圆周围将染色体上效应点相近的单核苷酸多态性位点以不同的颜色及数字分组, P 值越小,与暴露因素表型相关性越强,则单个单核苷酸多态性位点峰值越靠近圆心;图中红色内圈即将 $P < 5 \times 10^{-8}$ 作为筛选条件,若单个单核苷酸多态性位点峰值越过红色内圈

向圆心延伸,即可认为该单核苷酸多态性位点符合差异显著的筛选条件。图 2 | 以 $P < 5 \times 10^{-8}$ 为条件筛选全基因组差异显著的单核苷酸多态性曼哈顿图

1.4.2 孟德尔随机化分析 将整理好的工具变量与结局数据运用 TwoSample MR 软件包进行分析,通过逆方差加权法 (inverse variance weighted, IVW)^[28]、MR-Egger 回归、加权中位数法 (weighted mode, WM)、加权中值法 (weighted median estimator, WME)^[29]、简单中位数法 (simple mode, SM) 等回归模型的 OR 值与可信区间 (95%CI) 以评估躯干及双下肢脂肪量与椎间盘退变的因果关系^[30]。其中逆方差加权法基于

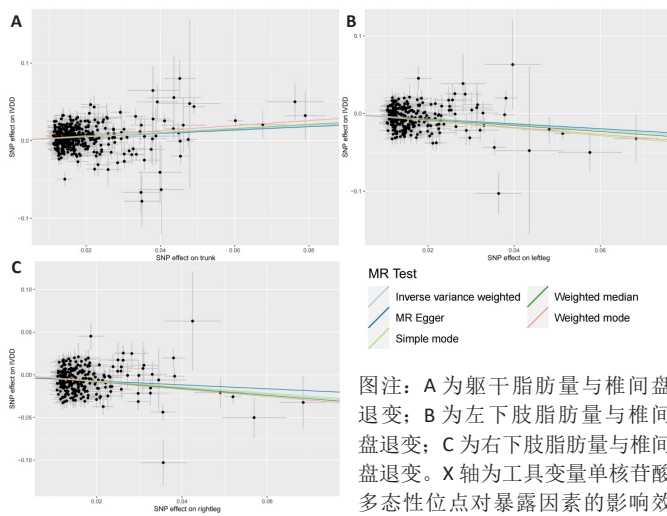
基因型的汇总数据^[31-32],使用元分析方法结合满足了 3 个假设的所有工具变量因果效应的 Wald 估计值以获得总体估计值,即无偏倚的估计值,得出的因果关系相对稳定,故作为该研究的主要统计方法^[33]。MR-Egger 回归使用结局变量的方差倒数进行加权计算^[34],纳入截距项并不排除多效性,使其不受工具变量多效性的影响而能在纠正多效性后通过截距提供估计结果。逆方差加权法虽然结果相对可靠,但排除了无效工具变量与多效性效应,而加权中值法在无效工具变量接近半数的情况下,仍可改进逆方差加权法的估计结果,并且得出方向一致的效应估计值。加权中位数法通过鉴别多个变量,将每个 SNPs 对应的因果效应值与每个聚类中的 SNP 数进行加权,以得出具有最大权重的估计值^[35]。由于每个 SNP 在其中的权重相同,故简单中位数法将有相似值的 SNPs 以簇分组,以组中 SNP 个数最多的组来评判因果关系^[36]。通过孟德尔随机化的逆方差加权法、MR-Egger 回归、简单中位数法、加权中位数法及加权中值法回归模型的 OR 值和 95%CI 进行分析并评估暴露与结局间的因果关系。文章统计学方法已经过北京中医药大学生物统计学专家审核。

1.5 主要观察指标 ①左下肢脂肪量与椎间盘退变的因果关系;②右下肢脂肪量与椎间盘退变的因果关系;③躯干脂肪量与椎间盘退变的因果关系;④敏感性分析结果。

2 结果 Results

2.1 工具变量的选取 在使用 clumped 函数去除连锁不平衡后,躯干脂肪量剩余 423 个 SNPs,左下肢脂肪量剩余 288 个 SNPs,右下肢脂肪量剩余 285 个 SNPs。经计算后得出此次研究每个 SNP 对应的 F 值均 > 10 (躯干: 27.36-795.01,左下肢: 18.12-410.12,右下肢: 18.76-430.60),即不存在弱工具变量偏倚。在 Phenoscanner 数据库中检索相关表型并剔除相关的 SNPs,最后删除回文单核苷酸多态性后经 MR-PRESSO 分析无离群值,最终躯干脂肪量纳入 347 个 SNPs、左下肢脂肪量纳入 256 个 SNPs、右下肢脂肪量纳入 255 个 SNPs 作为工具变量来评估与椎间盘退变的因果关系。

2.2 躯干脂肪量与椎间盘退变的因果关系 逆方差加权法检测结果显示: $OR=1.25$, 95%CI: 1.15-1.35, $P < 0.001$; 加权中值法检测结果显示: $OR=1.28$, 95%CI: 1.16-1.42, $P < 0.001$; MR-Egger 检测结果显示: $OR=1.32$, 95%CI: 1.05-1.65, $P=0.02$; 加权中位数法检测结果显示: $OR=0.65$, 95%CI: 0.50-0.85, $P=0.002$,以上方法结果 P 值均 < 0.05 ,具有显著性意义。简单中位数法结果显示: $OR=1.29$, 95%CI: 0.90-1.84, $P=1.29$,结果无显著性意义,但是 5 种方法因果效应方向一致 (OR 值均 > 1),散点图显示回归线无明显偏移,见图 3,故提示躯干脂肪量与椎间盘退变有正向因果关系,躯干脂肪量升高是椎间盘退变发生的风险因素。



图注: A 为躯干脂肪量与椎间盘退变; B 为左下肢脂肪量与椎间盘退变; C 为右下肢脂肪量与椎间盘退变。X 轴为工具变量单核苷酸多态性位点对暴露因素的影响效应值, Y 轴为工具变量单核苷酸多态性位点对结局的影响效应值;图中黑色圆点即为单核苷酸多态性位点,以黑点为中心的纵横线段为单核苷酸多态性位点的效应波动范围;斜行的 5 种线段即为孟德尔随机化分析的 5 种工具,若上行则暴露因素对结局有正向因果关系,下行则反之。图 3 | 因果关联的孟德尔随机化效应量散点图

2.3 双下肢脂肪量与椎间盘退变的因果关系 在左下肢脂肪量与椎间盘退变的分析中,逆方差加权法具有显著性意义(OR=0.7, 95%CI: 0.63-0.78, P<0.001),提示左下肢脂肪量与椎间盘退变有反向因果关系;5种方法的因果效应方向一致。在右下肢脂肪量与椎间盘退变中:逆方差加权法、加权中值法与加权中位数法的结果均具有显著性意义,OR(95%CI)分别为0.69(0.62-0.76),0.68(0.60-0.76),0.65(0.50-0.85),P值均<0.05,提示右下肢脂肪量与椎间盘退变有反向因果关系;简单中位数法(OR=0.7, 95%CI: 0.40-0.96, P=0.10)以及MR-Egger(OR=0.8, 95%CI: 0.59-1.08, P=0.14)结果无显著性意义,但5种方法的因果效应方向一致,散点图显示回归线无明显偏移,提示结果同前。综上,双下肢脂肪量与椎间盘退变有反向因果关系,双下肢脂肪量是椎间盘退变的保护因素,以上数据细节见表2。

表2 | 躯干及双下肢脂肪量对椎间盘退变风险的孟德尔随机化结果

结局	暴露	孟德尔随机化方法	工具变量单核苷酸多态性的数目	OR(95%CI)值	P值
椎间盘退变	躯干脂肪量	孟德尔随机化 Egger	347	1.315(1.049-1.649)	0.018
		加权中值方法	347	1.280(1.157-1.417)	1.77×10 ⁻⁶
		逆方差加权法	347	1.246(1.152-1.346)	3.07×10 ⁻⁸
		简单中位数法	347	1.289(0.904-1.839)	0.162
	左下肢脂肪量	孟德尔随机化 Egger	256	0.730(0.538-0.990)	0.044
		加权中值方法	256	0.679(0.602-0.767)	8.35×10 ⁻¹⁰
		逆方差加权法	256	0.701(0.634-0.776)	5.96×10 ⁻¹²
		简单中位数法	256	0.622(0.402-0.961)	0.033
	右下肢脂肪量	孟德尔随机化 Egger	255	0.639(0.483-0.845)	0.002
		加权中值方法	255	0.795(0.586-1.078)	0.141
		逆方差加权法	255	0.670(0.595-0.755)	1.92×10 ⁻¹¹
		简单中位数法	255	0.685(0.620-0.757)	9.53×10 ⁻¹⁴
		加权中位数法	255	0.700(0.462-1.061)	0.094
		加权中位数法	255	0.654(0.505-0.847)	0.001

2.4 敏感性分析结果 MR-Egger 回归分析结果表明,以上数据未检测到潜在的水平多效性,P值均>0.05(躯干脂肪量:P=0.617;左下肢脂肪量:P=0.785;右下肢脂肪量:P=0.315),即说明3种工具变量均并不通过暴露以外的途径影响结局,符合排他性假设。而在对工具变量兼容性的Cochran's Q 异质性检验中,躯干及双下肢脂肪量均发现了潜在的异质性,这可能与来源于不同样本量、不同协变量校正、不同分析方法、不同数据库有关,但逆方差加权法方法数据已表明因果关系明确,满足独立性假设,故异质性允许存在,不影响阳性结果的解读。以上数据细节见表3。

表3 | 躯干及双下肢脂肪量对椎间盘退变的多效性和异质性检验结果

结局	暴露	水平多效性检验		异质性检验	
		孟德尔随机化 - Egger 回归 P 值	孟德尔随机化 Egger Q P 值	逆方差加权法 Q P 值	逆方差加权法 Q P 值
椎间盘退变	躯干脂肪量	0.617	1.15×10 ⁻³¹	1.47×10 ⁻³¹	1.47×10 ⁻³¹
	左下肢脂肪量	0.784	1.30×10 ⁻²⁶	1.87×10 ⁻²⁶	1.87×10 ⁻²⁶
	右下肢脂肪量	0.315	1.53×10 ⁻²⁵	1.23×10 ⁻²⁵	1.23×10 ⁻²⁵

使用“留一法”敏感性分析去除单个变异是否会影响结果,分析显示无个别SNP对整体因果关系预测产生影响。使用R包将以上结果进行可视化,见图4-6(因工具变量SNP数目较大,图4,5仅展示部分SNPs)。

3 讨论 Discussion

该研究基于GWAS与芬兰数据库,使用孟德尔随机化分析探讨了躯干及双下肢脂肪量与椎间盘退变的因果关联,结果显示躯干脂肪量的升高会增加椎间盘退变发生的风险,除简单中位数法外,其他4种分析结果均存在显著性意义,5种分析方法效应值方向一致;双下肢脂肪量的升高会降低椎间盘退变发生的风险,与椎间盘退变呈反向因果关系,是该病变的保护因素,除MR-Egger法外其他4种分析结果均存在显著性意义,5种分析方法效应值方向一致。以上结果提示躯干及双下肢脂肪

量和椎间盘退变的因果效应保持稳定,结果确切。这一结论为躯干及双下肢脂肪量与椎间盘退变间发病机制研究与临床防治提供了数据上的支持。

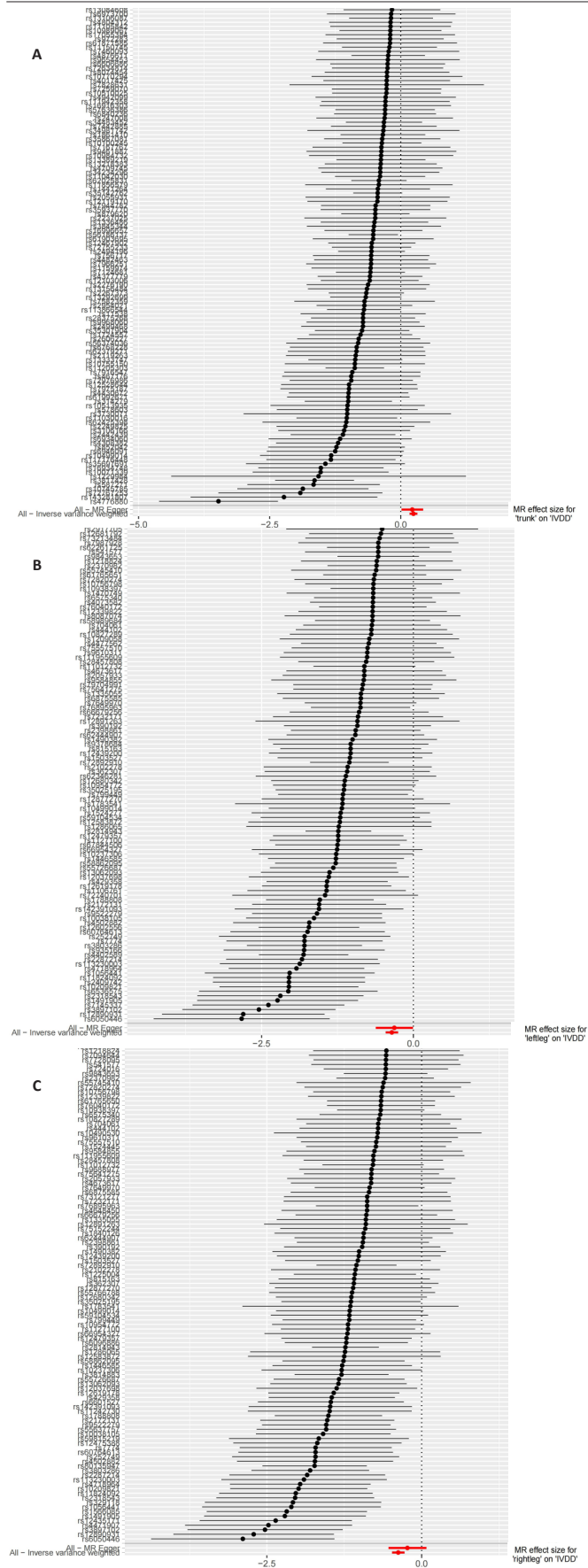
肥胖作为脊柱退行性变的致病因素之一^[37],主流观点认为其主要从脂肪释放因子与机械应力两个方面影响椎间盘退变^[38-40]。其中身体质量指数与脂肪量均为肥胖常用的评估指标,在与椎间盘退变的关系上,已有研究证实局部脂肪量作为判断工具,对于评估椎间盘退变患者的退变程度更加可靠。早期WU等^[41]针对汉族人群脂肪量相关的基因多态性与椎间盘退变风险的关联进行了观察性研究,并得出了前者对于后者起到了重要影响的结果,这与该研究的基本思路一致。此前将脂肪量分为躯干与下肢的研究主要集中在内科疾病方向,如SNIJDER等^[42]认为在女性中,相较于躯干脂肪,腿部脂肪的堆积似乎可以防止葡萄糖代谢紊乱,这与心血管和代谢疾病患病率息息相关^[43]。也有研究认为脂肪的分布较脂肪总量,更能预测个体的胰岛素抵抗和相关并发症^[44]。脂肪的分布与含量的具体机制在骨关节疾病领域中尚不明确,如何针对不同区域的脂肪分布进行发病风险的研究,得出更可靠的评估标准以指导临床,是下一步研究的重要方向^[45]。

在躯干脂肪量的升高会提升椎间盘退变风险的结果中,该研究认为过多的脂肪除了带来相对过大的机械应力外,它释放的物质对椎间盘的影响也是重要因素之一^[46]。肥胖引起骨关节相关疾病的机制可能是脂毒性的影响,即游离脂肪酸在非脂肪组织中的积累^[47-48]。在病理情况下,脂肪组织会释放脂肪细胞因子,它们不仅参与能量代谢,部分还会诱导肝脏产生促炎因子,这些炎症相关的因子可能会导致脊柱发生炎症环境的变化从而引起局部疼痛,这与糖尿病患者情况类似^[49-50]。如JAMALUDDIN等^[51]发现抵抗素通过核转录因子κB途径造成炎症环境和调节关节部分的血管生成,且水平与Pfarrmann分级呈正相关,还能一定程度上调控巨噬细胞,从而影响炎症的轻重程度。LIU等^[52]证实抵抗素可以调控p38-MAPK通路来控制解聚蛋白样金属蛋白酶的表达与调控代谢,以致椎间盘退变的进程加快。除了脂肪细胞因子的释放,躯干脂肪量对于椎间盘退变的影响还可能与脂肪浸润有关。腰背部多裂肌对于维持腰椎的稳定起主要作用,它可以抵抗脊柱的旋转与活动,当被脂肪组织浸润造成肌肉强度降低时,会导致它维稳的功能受到限制,对外在负荷的控制力如抗剪切力、抗滑动力的减弱,从而无法维持椎间盘的结构稳定,导致椎间盘退变^[53]。

双下肢脂肪可能通过人的行为学改变来影响对椎间盘的受力,以保护椎间盘的结构^[54]。椎间盘中的凝胶状髓核细胞外基质主要由蛋白多糖与II型胶原组成,其水合性高,有助于抵抗轴向机械载荷^[55];而在纤维环的细胞外基质主要由蛋白多糖与I型胶原构成,有助于承受横向机械刺激。双下肢脂肪引起人体日常活动的步态、直立立线的改变可能与此有关,但这方面可能有待进一步的探索以及引入更多的研究进行分析。除此之外,部分脂肪细胞因子如分泌型糖蛋白PGRN能通过结合肿瘤坏死因子受体2,促进白细胞介素10的产生从而产生抗炎、抗降解活性的作用,从而延缓椎间盘退变的进展^[56-57]。生长素释放肽作为一种28残基的肽激素,在既往研究中被证实能抑制炎症相关生物标志物的生成,上调髓核细胞中II型胶原等的表达以发挥保护椎间盘的作用^[58]。此前下肢脂肪与椎间盘退变的研究较少,但作为保护因素纳入到肥胖对椎间盘退变的影响评估中可能会对其机制提出新的假说与研究方向,为治疗与预防提供更好的方案。

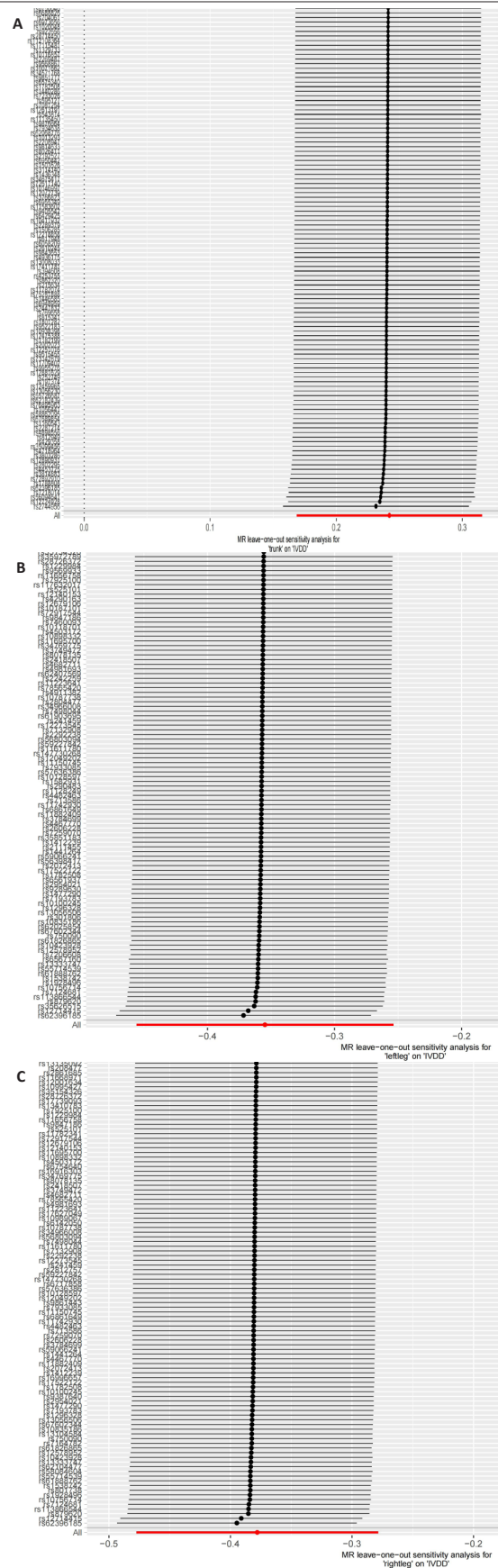
脂肪量及其分布如何增加椎间盘退变风险及如何成为保护因素,仅仅依赖观察性研究以求得出确切结论是不切实际的。该研究使用的孟德尔随机化作为新型流行病学研究方法,主要有以下几个优势:①被选为工具变量的遗传变异形成可以免于社会、生活等混杂因素的干扰,结果更加可靠;②遗传变异基于孟德尔定律,远先于暴露因素与结局变量生成,这使得孟德尔随机化免于逆向因果的可能性;③孟德尔随机化的数据来源于研究者文献、数据库的公开,在获得大样本量数据的同时免于伦理问题,仍可以一定程度上达到随机对照试验的随机性,研究成本较低且结果可信。

但该研究仍存在局限性。首先,使用的英国生物样本库与芬兰数据库数据均来自于欧洲人口,一定程度上未避开结论对于其他种群的适用性。GWAS数据库及荟萃分析的数据收集是孟德尔随机化分析在因果推



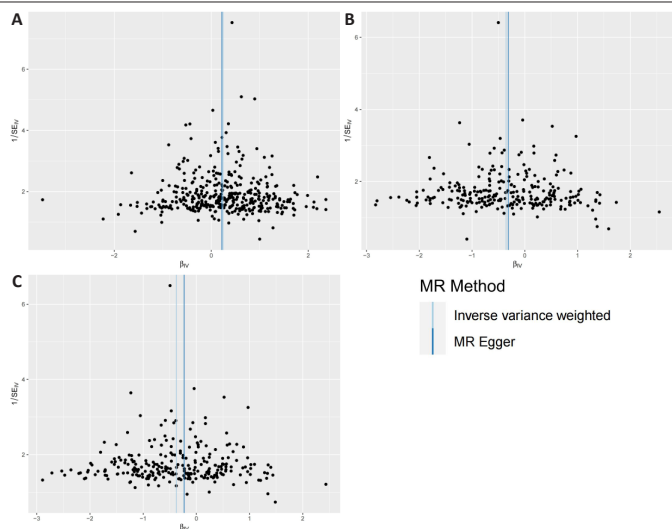
图注：A 为躯干脂肪量与椎间盘退变；B 为左下肢脂肪量与椎间盘退变；C 为右下肢脂肪量与椎间盘退变。X 轴为工具变量中单个单核苷酸多态性位点对结局的效应值波动范围，Y 轴为暴露因素的所有单核苷酸多态性位点名称。

图 4 | 因果关联的孟德尔随机化大小森林图



图注：图 A 为躯干脂肪量与椎间盘退变；B 为左下肢脂肪量与椎间盘退变；C 为右下肢脂肪量与椎间盘退变。X 轴为去除某单个单核苷酸多态性位点后工具变量对结局的效应值波动范围，Y 轴为暴露因素的所有单核苷酸多态性位点名称，图中无个别单核苷酸多态性位点对整体因果关系预测产生明显影响。

图 5 | 留一法敏感性分析结果图



图注: A 为躯干脂肪量与椎间盘退变; B 为左下肢脂肪量与椎间盘退变; C 为右下肢脂肪量与椎间盘退变。图中 X 轴为工具变量孟德尔随机化研究的 beta 值, Y 轴为工具变量单核苷酸多态性位点的标准误差值, 黑色圆点即为单核苷酸多态性位点; 纵行线段即为孟德尔随机化研究异质性检验两种方法的 beta 值, 若两条纵行线段相近且以此为中线, 两侧单核苷酸多态性位点基本对称, 即可认为该孟德尔随机化分析不存在异质性。

图 6 | 因果关系的漏斗图

断中应用的重要前提, 目前数据的主要来源为欧洲人口, 亚洲人口及其他地区数据不足难以进行大规模批量的分析是研究结果外推性受限的主要原因。DNA 测序及人类基因组技术的普及带来的其他地区遗传变异数据的补全将可用于未来完善人类疾病的预防和治疗。其次, 男性与女性的腹部和臀部脂肪堆积比例不同, 腰椎所承受的剪切力也不同^[59], 该研究并未区分男女性别差异, 同时仅将脂肪量分为躯干与下肢, 并未具体区分腹部及腰背部, 这受限于 GWAS 数据库无法获取个体水平的患者数据。但工具变量的严格筛选可尽量避免样本选择上的偏倚, 以使得最终结果稳健可信。最后, 验证部分证明该研究结果存在异质性, 该研究异质性检验漏斗图中, 可见以孟德尔随机化异质性检验两种方法的 beta 值为中线, 两侧 SNPs 基本对称, 结合 3 个暴露因素经 P 值限定为 5×10^{-8} , F 值均值的筛选, 仍保有数量较大的 SNPs 的结果来看, 过多的 SNP 数目可能是该研究异质性最大的来源。但最终纳入的 SNPs 经上述严格筛选, 均为强工具变量并且排除了水平多效性以避免偏倚, 结合既往已发表的相关文献^[60], 可认为文章异质性的存在不影响研究结果的解读。如何更进一步筛选数据的来源与优化分析工具, 为今后的流行病学研究提供更有利可靠的证据, 将是下一步研究探讨的重点。

综上所述, 该研究采用两样本孟德尔随机化方法揭示了躯干脂肪量与椎间盘退变存在正向因果关联, 双下肢脂肪量与椎间盘退变存在反向因果关联。此前肥胖用于评估椎间盘的退变程度主要围绕身体质量指数展开, 该研究围绕脂肪量及其主要分布进行基因层面的数据分析, 为研究肥胖对椎间盘的影响提供了新的视角, 提示未来在临床中治疗与预防椎间盘退变时应脂肪量及分布给予更多关注。

致谢: 感谢北京中医药大学提供电子数据资源平台。

作者贡献: 此次研究由通讯作者设计。第一、二作者实施。该研究所有作者共同完成论文撰写。

利益冲突: 文章的全部作者声明, 在课题研究和文章撰写过程中不存在利益冲突。

开放获取声明: 这是一篇开放获取文章, 根据《知识共享许可协议》“署名-非商业性使用-相同方式共享 4.0”条款, 在合理引用的情况下, 允许他人以非商业性目的基于原文内容编辑、调整和扩展, 同时允许任何用户阅读、下载、拷贝、传递、打印、检索、超级链接该文献, 并为之建立索引, 用作软件的输入数据或其它任何合法用途。

版权转让: 文章出版前全体作者与编辑部签署了文章版权转让协议。

出版规范: 该文章撰写遵守国际医学期刊编辑委员会《学术研究实验与报告和医学期刊编辑与发表的推荐规范》及《孟德尔随机化研究的报告规范 (STROBE-MR)》。文章出版前已经过专业反剽窃文献检测系统进行 3 次查重。文章经小同行外审专家双盲外审, 同行评议认为文章符合期刊投稿宗旨。

4 参考文献 References

- ZHENG CJ, CHEN J. Disc degeneration implies low back pain. *Theor Biol Med Model.* 2015;12:24.
- DAMMERS R, KOEHLER PJ. Lumbar disc herniation: level increases with age. *Surg Neurol.* 2002;58(3-4):209-212; discussion 212-213.
- HECHAVARRIA ME, RICHARD SA. Elucidating the focal immunomodulatory clues influencing mesenchymal stem cells in the milieu of intervertebral disc degeneration. *Curr Stem Cell Res Ther.* 2023;18(1):62-75.
- TREFILOVA VV, SHNAYDER NA, PETROVA MM, et al. The role of polymorphisms in collagen-encoding genes in intervertebral disc degeneration. *Biomolecules.* 2021;11(9):1279.
- KIRNAZ S, CAPADONA C, WONG T, et al. Fundamentals of intervertebral disc degeneration. *World Neurosurg.* 2022;157:264-273.
- 徐波, 黄泽灵, 张龙, 等. 中国人群腰椎间盘突出症患病率的 Meta 分析 [J]. *中医正骨*, 2023, 35(9):17-23.
- ZHAO CQ, LIU D, LI H, et al. Expression of leptin and its functional receptor on disc cells: contribution to cell proliferation. *Spine (Phila Pa 1976).* 2008;33(23):E858-E864.
- GO O, FREEEMAN RH, REAMS GP, et al. Obesity hypertension: pathophysiological role of leptin in neuroendocrine dysregulation. *Am J Med Sci.* 2014;347(6):485-489.
- DOWDELL J, ERWIN M, CHOMA T, et al. Intervertebral disk degeneration and repair. *Neurosurgery.* 2017;80(3S):S46-S54.
- BERIKOL G, EKŞI MŞ, AYDIN L, et al. Subcutaneous fat index: a reliable tool for lumbar spine studies. *Eur Radiol.* 2022;32(9):6504-6513.
- WANG M, YUAN H, LEI F, et al. Abdominal fat is a reliable indicator of lumbar intervertebral disc degeneration than BMI. *World Neurosurg.* 2023;S1878-8750(23)01630-016333.
- BURGESS S, DAVEY SMITH G, DAVIES NM, et al. Guidelines for performing Mendelian randomization investigations: update for summer 2023. *Wellcome Open Res.* 2023;4:186.
- NAZARZADEH M, PINHO-GOMES AC, BIDEL Z, et al. Plasma lipids and risk of aortic valve stenosis: a Mendelian randomization study. *Eur Heart J.* 2020;41(40):3913-3920.
- LAWLOR DA, HARBORD RM, STERNE JA, et al. Mendelian randomization: using genes as instruments for making causal inferences in epidemiology. *Stat Med.* 2008;27(8):1133-1163.
- CLARKE SLN, MITCHELL RE, SHARP GC, et al. Vitamin D levels and risk of juvenile idiopathic arthritis: a mendelian randomization study. *Arthritis Care Res (Hoboken).* 2023;75(3):674-681.
- ZHOU J, MI J, PENG Y, et al. Causal associations of obesity with the intervertebral degeneration, low back pain, and sciatica: a two-sample mendelian randomization study. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2021;12:740200.
- SKRIVANKOVA VW, RICHMOND RC, WOOLF BAR, et al. Strengthening the reporting of observational studies in epidemiology using mendelian randomization: the STROBE-MR statement. *JAMA.* 2021;326(16):1614-1621.
- QIU S, ZHENG K, HU Y, et al. Genetic correlation, causal relationship, and shared loci between vitamin D and COVID-19: a genome-wide cross-trait analysis. *J Med Virol.* 2023;95(5):e28780.
- ZHOU T, SUN D, LI X, et al. Educational attainment and drinking behaviors: Mendelian randomization study in UK Biobank. *Mol Psychiatry.* 2021;26(8):4355-4366.
- 黄国鑫, 陈霞丽, 裴斌. 孟德尔随机化探索骨密度与膝关节骨性关节炎的因果关联 [J]. *中国骨质疏松杂志*, 2023, 29(4):512-517.

- [21] CODD V, NELSON CP, ALBRECHT E, et al. Identification of seven loci affecting mean telomere length and their association with disease. *Nat Genet.* 2013;45(4):422-427.
- [22] LI W, LU Q, QIAN J, et al. Assessing the causal relationship between genetically determined inflammatory biomarkers and low back pain risk: a bidirectional two-sample Mendelian randomization study. *Front Immunol.* 2023;14:1174656.
- [23] LEVIN MG, JUDY R, GILL D, et al. Genetics of height and risk of atrial fibrillation: a Mendelian randomization study. *PLoS Med.* 2020;17(10):e1003288.
- [24] VERMEULEN JM, WOOTTON RE, TREUR JL, et al. Smoking and the risk for bipolar disorder: evidence from a bidirectional Mendelian randomisation study. *Br J Psychiatry.* 2021;218(2):88-94.
- [25] ROSOFF DB, CLARKE TK, ADAMS MJ, et al. Educational attainment impacts drinking behaviors and risk for alcohol dependence: results from a two-sample Mendelian randomization study with ~780,000 participants. *Mol Psychiatry.* 2021;26(4):1119-1132.
- [26] VERBANCK M, CHEN CY, NEALE B, et al. Publisher Correction: detection of widespread horizontal pleiotropy in causal relationships inferred from Mendelian randomization between complex traits and diseases. *Nat Genet.* 2018;50(8):1196.
- [27] BOWDEN J, DAVEY SMITH G, BURGESS S. Mendelian randomization with invalid instruments: effect estimation and bias detection through Egger regression. *Int J Epidemiol.* 2015;44(2):512-525.
- [28] BURGESS S, DUDBRIDGE F, THOMPSON SG. Combining information on multiple instrumental variables in Mendelian randomization: comparison of allele score and summarized data methods. *Stat Med.* 2016;35(11):1880-1906.
- [29] BOWDEN J, DAVEY SMITH G, HAYCOCK PC, et al. Consistent estimation in mendelian randomization with some invalid instruments using a weighted median estimator. *Genet Epidemiol.* 2016;40(4):304-314.
- [30] LU Y, WANG Z, ZHENG L. Association of smoking with coronary artery disease and myocardial infarction: a Mendelian randomization study. *Eur J Prev Cardiol.* 2021;28(12):e11-e12.
- [31] ZHAO J, WANG J, XU H, et al. Intervertebral disk degeneration and bone mineral density: a bidirectional mendelian randomization study. *Calcif Tissue Int.* 2023. doi: 10.1007/s00223-023-01165-1.
- [32] YUAN S, MIAO Y, RUAN X, et al. Therapeutic role of interleukin-1 receptor antagonist in pancreatic diseases: mendelian randomization study. *Front Immunol.* 2023;14:1240754.
- [33] HAN Y, ZHANG Y, ZENG X. Assessment of causal associations between uric acid and 25-hydroxyvitamin D levels. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2022; 13:1024675.
- [34] LI J, BAI H, QIAO H, et al. Causal effects of COVID-19 on cancer risk: a Mendelian randomization study. *J Med Virol.* 2023;95(4):e28722.
- [35] BENN M, MAROTT SCW, NORDESTGAARD BG. Obesity increases heart failure incidence and mortality: observational and Mendelian randomization studies totalling over 1 million individuals. *Cardiovasc Res.* 2023;118(18):3576-3585.
- [36] DOBRIJEVIC E, VAN ZWIETEN A, KIRYLUK K, et al. Mendelian randomization for nephrologists. *Kidney Int.* 2023;104(6):1113-1123.
- [37] 董杰, 谭志宏, 伍艳阳. 肥胖与腰椎间盘突出退行性疾病及退变程度的关系研究 [J]. 深圳中西医结合杂志, 2021,31(15):32-34.
- [38] JUNG M, ROSPLESZCZ S, LÖFFLER MT, et al. Association of lumbar vertebral bone marrow and paraspinal muscle fat composition with intervertebral disc degeneration: 3T quantitative MRI findings from the population-based KORA study. *Eur Radiol.* 2023;33(3):1501-1512.
- [39] KALB S, MARTIROSYAN NL, KALANI MY, et al. Genetics of the degenerated intervertebral disc. *World Neurosurg.* 2012;77(3-4):491-501.
- [40] GUO W, LI BL, ZHAO JY, et al. Causal associations between modifiable risk factors and intervertebral disc degeneration. *Spine J.* 2023. doi: 10.1016/j.spinee.2023.10.021.
- [41] WU Z, YANG Y, QIU G. Association study between the polymorphisms of the fat mass- and obesity-associated gene with the risk of intervertebral disc degeneration in the Han Chinese population. *Genet Test Mol Biomarkers.* 2013;17(10):756-762.
- [42] SNIJDER MB, DEKKER JM, VISSER M, et al. Trunk fat and leg fat have independent and opposite associations with fasting and postload glucose levels: the Hoorn study. *Diabetes Care.* 2004;27(2):372-377.
- [43] SEFAN N. Causes, consequences, and treatment of metabolically unhealthy fat distribution. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2020;8(7):616-627.
- [44] GOOSSENS GH. The metabolic phenotype in obesity: fat mass, body fat distribution, and adipose tissue function. *Obes Facts.* 2017;10(3):207-215.
- [45] YUKSEL Y, ERGUN T, TORUN E. Relationship between cervical posterior subcutaneous fat tissue thickness and the presence and degree of cervical intervertebral disc degeneration. *Medicine (Baltimore).* 2022; 101(28):e29890.
- [46] RUIZ-FERNÁNDEZ C, FRANCISCO V, PINO J, et al. Molecular relationships among obesity, inflammation and intervertebral disc degeneration: are adipokines the common link? *Int J Mol Sci.* 2019;20(8):2030.
- [47] OPIE LH, WALFISH PG. Plasma free fatty acid concentrations in obesity. *N Engl J Med.* 1963;268:757-760.
- [48] SANDELL LJ. Etiology of osteoarthritis: genetics and synovial joint development. *Nat Rev Rheumatol.* 2012;8(2):77-89.
- [49] DA CRUZ FERNANDES IM, PINTO RZ, FERREIRA P, et al. Low back pain, obesity, and inflammatory markers: exercise as potential treatment. *J Exerc Rehabil.* 2018;14(2):168-174.
- [50] FRANCISCO V, PINO J, GONZÁLEZ-GAY MÁ, et al. A new immunometabolic perspective of intervertebral disc degeneration. *Nat Rev Rheumatol.* 2022;18(1):47-60.
- [51] JAMALUDDIN MS, WEAKLEY SM, YAO Q, et al. Resistin: functional roles and therapeutic considerations for cardiovascular disease. *Br J Pharmacol.* 2012;165(3):622-632.
- [52] LIU C, YANG H, GAO F, et al. Resistin promotes intervertebral disc degeneration by upregulation of ADAMTS-5 through p38 MAPK signaling pathway. *Spine (Phila Pa 1976).* 2016;41(18):1414-1420.
- [53] 王成伟. 腰椎椎旁肌横截面积和多裂肌脂肪浸润及不对称性对退行性腰椎滑脱的影响 [J]. 感染、炎症、修复, 2020,21(3):177-181.
- [54] KUAI S, LIAO Z, ZHOU W, et al. The effect of lumbar disc herniation on musculoskeletal loadings in the spinal region during level walking and stair climbing. *Med Sci Monit.* 2017;23:3869-3877.
- [55] VERGROESEN PP, KINGMA I, EMANUEL KS, et al. Mechanics and biology in intervertebral disc degeneration: a vicious circle. *Osteoarthritis Cartilage.* 2015;23(7):1057-1070.
- [56] WEI J, HETTINGHOUSE A, LIU C. The role of progranulin in arthritis. *Ann N Y Acad Sci.* 2016;1383(1):5-20.
- [57] WANG S, WEI J, FAN Y, et al. Progranulin is positively associated with intervertebral disc degeneration by interaction with IL-10 and IL-17 through TNF pathways. *Inflammation.* 2018;41(5):1852-1863.
- [58] LI W, WU X, QU R, et al. Ghrelin protects against nucleus pulposus degeneration through inhibition of NF-κB signaling pathway and activation of Akt signaling pathway. *Oncotarget.* 2017;8(54):91887-91901.
- [59] STEVENS J, KATZ EG, HUXLEY RR. Associations between gender, age and waist circumference. *Eur J Clin Nutr.* 2010;64(1):6-15.
- [60] 武瑞琪, 张璇, 周毅, 等. 两样本孟德尔随机化分析他汀类药物与骨关节炎风险的关系 [J]. 中国组织工程研究, 2024,28(26):4106-4112.

(责任编辑: LWJ, WJ, ZN, WL)