

# 免疫细胞介导不同脂质与膝骨关节炎的相关性：欧洲个体全基因组关联分析

霍将<sup>1</sup>, 丁宇<sup>2</sup>, 原杰<sup>1</sup>

<https://doi.org/10.12307/2025.678>

投稿日期：2024-06-27

采用日期：2024-08-21

修回日期：2024-09-20

在线日期：2024-10-17

中图分类号：

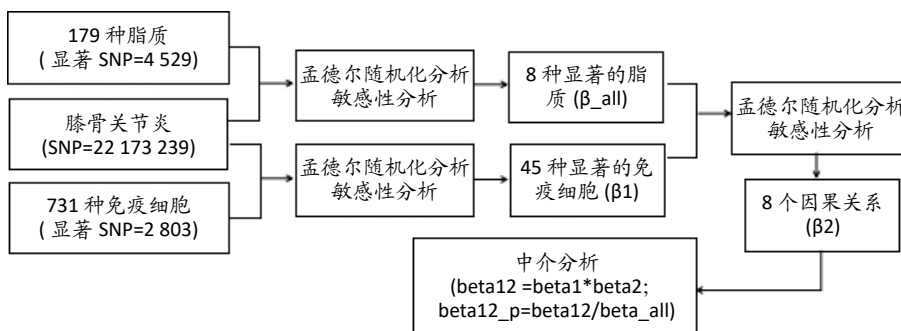
R459.9; R318; R580

文章编号：

2095-4344(2025)18-03934-07

文献标识码：A

文章快速阅读：脂质与膝骨关节炎的因果关系是否受免疫细胞调控



文题释义：

**孟德尔随机化：**是一种统计方法，用于研究和确定暴露因素(如某种生物标记物或生活方式)与健康结果(如疾病)之间的因果关系。该方法利用与暴露因素相关的基因变异(如单核苷酸多态性，SNPs)作为工具变量，这些基因变异在群体中是随机分布的，类似于自然的随机对照试验。通过分析这些基因变异与健康结果之间的关联，孟德尔随机化有助于推断暴露因素对健康结果的因果效应，减少混杂因素和反向因果关系的影响。

**两步孟德尔随机化(中介分析)：**是一种用于研究暴露因素通过一个或多个中介变量对结局产生影响的统计方法。通过将因果路径分解为两步(暴露到中介、中介到结果)，这种方法可以帮助研究人员区分暴露因素的直接效应和通过中介变量的间接效应，以揭示潜在的因果机制。

摘要

**背景：**观察性研究发现脂质与免疫细胞对于骨关节炎进展具有双重影响，但其具体作用机制尚不清楚。

**目的：**探究脂质与膝骨关节炎的因果关系是否受免疫细胞调控。

**方法：**179种脂质来源于Linda Ottensman数据库，从Open GWAS上获取到了731种免疫细胞相关的单核苷酸多态性作为工具变量，膝骨关节炎的全基因组关联研究数据来自于骨关节炎遗传学联盟。首先采用双样本孟德尔随机化方法从遗传学角度分别探讨脂质与膝骨关节炎、免疫细胞与膝骨关节炎、脂质与免疫细胞的因果关系。另外采用贝叶斯加权孟德尔随机化验证脂质与膝骨关节炎的因果关系，反向孟德尔随机化和Steiger方向性检验评估正向关系。随后进行敏感性分析，包括Cochran's Q检验消除异质性，MR-PRESSO全局检验和MR-Egger截距排除水平多效性，留一法评估单个单核苷酸多态性驱动因素对随机估计的影响。最后，通过两步孟德尔随机化方法确定特定免疫细胞性状在脂质与膝骨关节炎因果关系中的中介效应。

**结果与结论：**①逆方差加权法和贝叶斯加权算法共同确定8种与膝骨关节炎存在因果关系的脂质种类；②Cochran's Q、MR-PRESSO和MR-Egger截距结果均无统计学意义( $P < 0.05$ )；③同时共计算得出了3组中介关系，介导比例最低为11.85%，最高为45.48%；④提示免疫细胞水平在脂质与膝骨关节炎的调节进程中发挥潜在作用，这一发现能为深入探索膝骨关节炎的作用机制提供新的视角。

**关键词：**脂质；膝骨关节炎；孟德尔随机化；免疫细胞；中介分析；因果关系；工程化组织构建

## Immune cells mediate the association between different lipids and knee osteoarthritis: a genome-wide association analysis of European individuals

Huo Jiang<sup>1</sup>, Ding Yu<sup>2</sup>, Yuan Jie<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Orthopedics, The Second Hospital of Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China; <sup>2</sup>Shanxi Provincial Integrated TCM and WM Hospital, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China

Huo Jiang, MS, Attending physician, Department of Orthopedics, The Second Hospital of Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China

**Corresponding author:** Yuan Jie, MS, Attending physician, Department of Orthopedics, The Second Hospital of Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China

<sup>1</sup>山西医科大学第二医院骨科，山西省太原市 030001；<sup>2</sup>山西省中西医结合医院，山西省太原市 030001

**第一作者：**霍将，男，1989年生，内蒙古自治区达拉特旗人，汉族，2015年山西医科大学毕业，硕士，主治医师，主要从事骨科以及脊柱外科疾病的临床诊疗及相关科研工作。

**通讯作者：**原杰，硕士，主治医师，山西医科大学第二医院骨科，山西省太原市 030001

<https://orcid.org/0009-0002-0785-8483> (霍将)

**基金资助：**山西省基础研究计划自由探索类青年研究项目(202203021212053)，项目负责人：霍将；山西省基础研究计划自由探索类青年研究项目(20210302124670)，项目负责人：原杰；山西省高等教育“百亿元工程”科技引导专项(BYJL031)，项目参与人：原杰

**引用本文：**霍将，丁宇，原杰. 免疫细胞介导不同脂质与膝骨关节炎的相关性：欧洲个体全基因组关联分析[J]. 中国组织工程研究，2025，29(18):3934-3940.



## Abstract

**BACKGROUND:** Observational studies have found a dual effect of lipids and immune cells on osteoarthritis progression, but the exact mechanism of action is not yet clear.

**OBJECTIVE:** To investigate whether the causal relationship between lipids and knee osteoarthritis is regulated by immune cells.

**METHODS:** 179 lipids were obtained from the Linda Ottensman database, 731 immune cell-associated single nucleotide polymorphisms were obtained from Open GWAS as instrumental variables, and genome-wide association data for knee osteoarthritis were obtained from the Osteoarthritis Genetics Consortium. First, we used a two-sample Mendelian randomization method to investigate the causal relationships between lipids and knee osteoarthritis, between immune cells and knee osteoarthritis, and between lipids and immune cells from a genetic perspective. In addition, Bayesian-weighted Mendelian randomization verified the causal relationship between lipids and knee osteoarthritis, and reverse Mendelian randomization and Steiger directionality test assessed the positive relationship. Second, sensitivity analyses were performed, including Cochran's Q test to eliminate heterogeneity, MR-PRESSO global test and MR-Egger intercept to rule out horizontal pleiotropy, and leave-one-out method to assess the effect of individual single nucleotide polymorphism drivers on random estimates. Finally, the mediating effect of specific immune cell traits in the causal relationship between lipids and knee osteoarthritis was determined by a two-step Mendelian randomization method.

**RESULTS AND CONCLUSION:** The inverse variance weighting method and Bayesian-weighted algorithm together identified eight lipid species that were causally associated with knee osteoarthritis. The results of Cochran's Q, MR-PRESSO, and MR-Egger intercept were not statistically significant ( $P < 0.05$ ). Meanwhile, a total of three sets of mediated relationships were calculated, with the lowest mediation percentage of 11.85% and the highest of 45.48%. These findings indicate the level of immune cells plays a potential role in the regulatory process of lipids and knee osteoarthritis, which provides new perspectives for in-depth exploration of knee osteoarthritis.

**Key words:** lipids; knee osteoarthritis; Mendelian randomization; immune cells; mediation analysis; causal relationship; engineered tissue construction

**Funding:** Shanxi Province Basic Research Program Free Exploration Youth Research Project, Nos. 202203021212053 (to HJ) and 20210302124670 (to YJ); Shanxi Province Higher Education "Ten Billion Project" Science and Technology Guidance Special Project, No. BYJL031 (to YJ [project participant])

**How to cite this article:** HUO J, DING Y, YUAN J. Immune cells mediate the association between different lipids and knee osteoarthritis: a genome-wide association analysis of European individuals. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu*. 2025;29(18):3934-3940.

## 0 引言 Introduction

骨关节炎是全球最常见的退行性关节疾病之一,表现为关节软骨损伤、骨赘形成、软骨下骨变化以及滑膜和关节囊的改变<sup>[1]</sup>。随着人口老龄化,骨关节炎严重影响中老年人的生活质量并加重医疗系统负担<sup>[2-3]</sup>。当前的骨关节炎治疗方法主要是缓解症状和延缓疾病进展,但效果有限且有显著不良反应,因此,探索新型治疗手段尤为重要。

血浆脂质在信号传导和炎症反应中扮演重要角色,血脂异常被认为是负重关节发生骨关节炎的主要危险因素<sup>[4]</sup>。常规测量指标包括高密度脂蛋白胆固醇、低密度脂蛋白胆固醇、三酰甘油和总胆固醇。现代脂质组学技术扩展了循环脂质的鉴定范围,包括胆固醇酯、神经酰胺、二酰甘油、溶血磷脂酰胆碱等<sup>[5-9]</sup>。然而,尚未有人全面探讨这些脂质种类与骨关节炎的关系。相较于标准脂质,这些脂质可能对骨关节炎有更显著的影响,深入了解脂质代谢与骨关节炎病理生理学的关系,可能为骨关节炎提供新的治疗选择。

此外,脂质与免疫系统之间存在密切的相互作用。脂质不仅是细胞膜的基本组成成分,还参与免疫细胞的功能调节。研究表明,脂质代谢产物可以作为信号分子,调节巨噬细胞、T细胞和B细胞的活性<sup>[10-12]</sup>。神经酰

胺等脂质已被发现能够调控细胞凋亡和免疫细胞的应答<sup>[13]</sup>。此外,高密度脂蛋白也常常通过抑制免疫细胞趋化和活化发挥抗炎、抗氧化作用<sup>[14]</sup>。因此,脂质代谢异常可能通过免疫细胞介导的炎症途径影响骨关节炎的进展。然而,尚未有全面的报道免疫细胞在脂质影响骨关节炎途径中的作用。

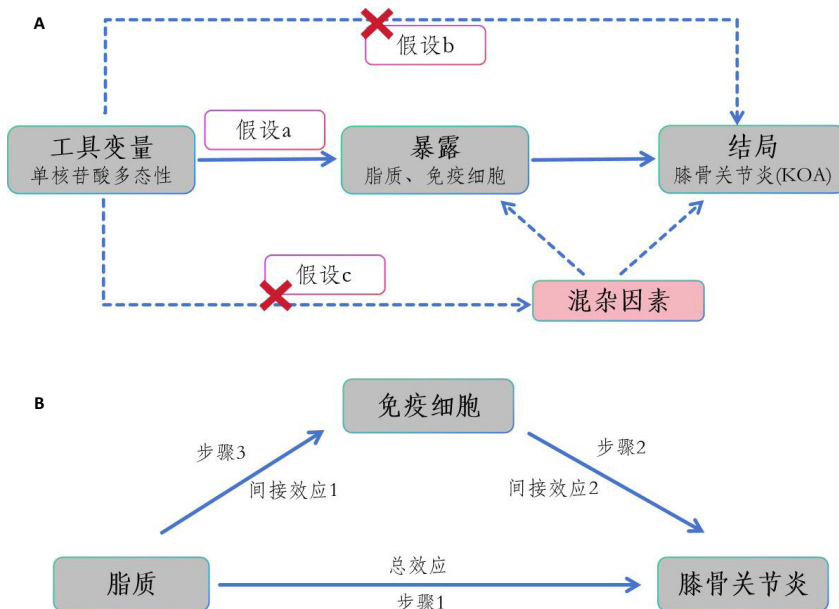
孟德尔随机化分析利用来自全基因组关联研究的单核苷酸多态性作为工具变量,是评估因果关系的有效方法。孟德尔随机化分析的优势在于利用受精时确定的基因型,避免传统观察性研究中的混杂因素和反向因果关系,从而提供更可靠的因果推断<sup>[15]</sup>。此次研究从近期的全基因组关联研究中获得了179种脂质<sup>[16]</sup>、731种免疫细胞以及膝骨关节炎的公开汇总统计数据<sup>[17-18]</sup>,通过两样本孟德尔随机化、反向孟德尔随机化、贝叶斯加权孟德尔随机化和两步孟德尔随机化等方法评估脂质种类与膝骨关节炎之间的因果关联,并探讨免疫细胞在此途径中的介导水平。

此次研究通过结合大规模人群队列的遗传数据和膝骨关节炎的详细临床表型,希望揭示免疫细胞介导的不同脂质在膝骨关节炎发病和进展中的潜在作用机制,研究结果可能为膝骨关节炎的治疗和预防提供新目标,改善患者的临床结果和生活质量。

## 1 资料和方法 Data and methods

**1.1 设计** 在孟德尔随机化分析中,使用单核苷酸多态性作为工具变量来评估暴露(脂质种类和免疫细胞)与结局(膝骨关节炎)之间的因果关系,需要满足3个基本假设(图1A)。首先,工具变量必须与暴露强关联;其次,工具变量与任何混杂因素无关联;最后,工具变量仅通过暴露影响结局<sup>[19]</sup>。基于这些假设,整体分析分为3个阶段(图1B):首先,在步骤1中鉴定与膝骨关节炎存在因果关系的脂质,并估计其总效应;然后,在步骤2中评估免疫细胞对膝骨关节炎的因果影响,并计算间接效应2;最后,在步骤3中,将与膝骨关节炎存在因果关系的脂质与免疫细胞进行孟德尔随机化,并计算间接效应1。通过系数乘积法量化所选免疫细胞在特定因果关系中的中介效应。此次因果分析是在借鉴流行病学观察性研究报告指南的基础上进行的,以确保研究的科学性和规范性<sup>[20]</sup>。

**1.2 数据来源** OTTENSMAAN等<sup>[16]</sup>上传了所有330个主要变异和所有179种脂质的代表性变异的全基因组关联研究统计摘要结果,来自GeneRISK队列的7174名芬兰个体,每种脂质的完整数据都上传到公共开放数据库GWAS Catalog(<https://www.ebi.ac.uk/gwas/>),并可免费获取(登录ID为



图注：在孟德尔随机化分析中，使用单核苷酸多态性作为工具变量来评估暴露（脂质种类和免疫细胞）与结局（膝骨关节炎）之间的因果关系，需要满足3个基本假设（图A）。基于这些假设，整体分析分为3个阶段（图B）。

图1 | 实验设计示意图

GCST90277238 至 GCST90277416)。

免疫细胞性状的遗传数据来自一项对 3 757 名欧洲个体中的 272 种血液免疫细胞相关因子的全基因组关联研究分析<sup>[17]</sup>。该分析涵盖了 731 个免疫特征，包括 118 个绝对细胞计数、389 个表面抗原平均荧光强度、32 个形态参数和 192 个相对细胞计数。这些性状进一步分为 7 个细胞组，包括 43 个单核细胞、190 个 B 细胞、64 个 CD 细胞、64 个骨髓细胞、124 个 T 细胞、B 细胞和自然杀伤细胞、79 个 T 细胞成熟阶段和 167 个调节性 T 细胞。相关完整数据可从 Open GWAS 数据库 (<https://gwas.mrcieu.ac.uk/>) 获取（登录 IDGCST90001391-GCST90002121）。

骨关节炎的遗传数据来自英国生物库 (UKB) 的大规模全基因组关联研究分析，可在骨关节炎遗传学联盟 (<https://www.geneticsosteoarthritis.com>) 上进行访问。该研究汇总了来自 9 个人群的数据，涉及多达 826 690 人（包括 177 517 例骨关节炎患者），在 11 种骨关节炎表型中发现了 100 个独立风险变异，是迄今为止最全面的骨关节炎全基因组关联研究分析<sup>[18]</sup>。在此次分析中，特别关注骨关节炎的常见临床性状——膝骨关节炎（62 497 例，333 557 例对照）。

**1.3 工具变量的选择** 首先，此次研究以  $P < 5 \times 10^{-8}$  为阈值来选定与不同种类脂质密切相关的单核苷酸多态性，以满足相关性假设。然而，在此阈值下，工具变量的数量非常有限。为了确保纳入足够多的阳性单核苷酸多态性进行分析，研究将  $P$  值的筛选标准扩大至  $1 \times 10^{-5}$ <sup>[21]</sup>。随后，对于连锁不平衡带来的误差，采用了  $r^2=0.001$  和 window size=10 000 kb 的标准，以确保单核苷酸多态性的独立性。接下来，通过应用 harmonise\_data() 函数去除回文序列，以确保遗传变异具有更高的可靠性和准确性。然后，利用公式  $F=(N-K-1)R^2/K(1-R^2)$  评估 IV 的强度，其中  $R^2$  表示 IV 解释的变异比例， $N$  表示样本量， $K$  表示单核苷酸多态性的数量，以  $F < 10$  为阈值排除弱工具变量<sup>[22]</sup>。最后，利用 LDlink 网站 (<https://ldlink.nih.gov/>) 进行过滤筛选，排除可能干扰的混杂因素（如体力活动、酒精摄入量和体质质量指数）对单核苷酸多态性的影响。此外，对于免疫细胞强相关的单核苷酸多态性，筛选标准是在原本的阈值  $P < 5 \times 10^{-8}$  的基础上进行的<sup>[23]</sup>。在反向孟德尔随机化分析中，骨关节炎工具变量的选择标准为  $P < 1 \times 10^{-5}$ ， $r^2=0.001$ ，window size=10 000 kb，因为在原先的条件下，工具变量的数量

有限。

**1.4 孟德尔随机化分析** 在双样本孟德尔随机化分析中，采用了 5 种不同的方法，包括逆方差加权、MR-Egger 回归算法、加权中位数、加权模式和简单模式方法，来评估脂质水平与膝骨关节炎之间的因果关系。逆方差加权方法作为其中的主要方法考虑了变异特异性因果估计的异质性，它采用荟萃分析来合并比率估计值，在假设所有选定的工具变量均有效的前提下得出无偏的结果<sup>[24]</sup>。随后，贝叶斯加权分析方法通过有效去除违反工具变量假设的干扰，提高因果推理的稳健性，同时纠正后验协方差，加强因果效应可靠性，进一步验证逆方差加权方法下的因果关系<sup>[25]</sup>。为方便对因果关系的解读，将衍生的  $\beta$  值转换为比值比 (odds ratio, OR)，同时计算 95% 置信区间 (confidence interval, CI)。

为验证因果关系的准确性并消除任何影响因果假设的关键因素，采取了一系列质量控制措施来评估研究结果的敏感性、异质性以及多效性。包括 Cochran's  $Q$  检验通过逆方差加权方法计算其衍生的  $P$  值，旨在消除异质性存在的影响。MR-PRESSO 全局检验和 MR-Egger 截距排除异常值后校正水平基因多效性。最后，凭借留一法分析，评估单个单核苷酸多态性驱动因素对随机估计的影响。

此外，进行反向孟德尔随机化分析和 Steiger 方向性测试来确定暴露与结局之间的正向因果关系<sup>[26]</sup>。当  $P < 0.05$  时，假定存在反向因果关系。最后，为了确定充当脂质和膝骨关节炎之间中介的免疫细胞特征，对显著的脂质和免疫细胞进行了两步孟德尔随机化分析，以区分免疫细胞和脂质的直接和间接影响。

## 2 结果 Results

**2.1 工具变量的选择** 在选择全基因组独立 ( $r^2=0.001$ ，window size=10 000 kb) 和  $P < 1 \times 10^{-5}$  后，179 个脂质的显著工具变量数量在 12-44 之间。在  $r^2=0.001$ ，window size=10 000 kb 和  $P < 5 \times 10^{-8}$  后，731 个免疫细胞的显著工具变量在 1-450 之间。反向孟德尔随机化分析中，膝骨关节炎的显著工具变量为 136 个。这些单核苷酸多态

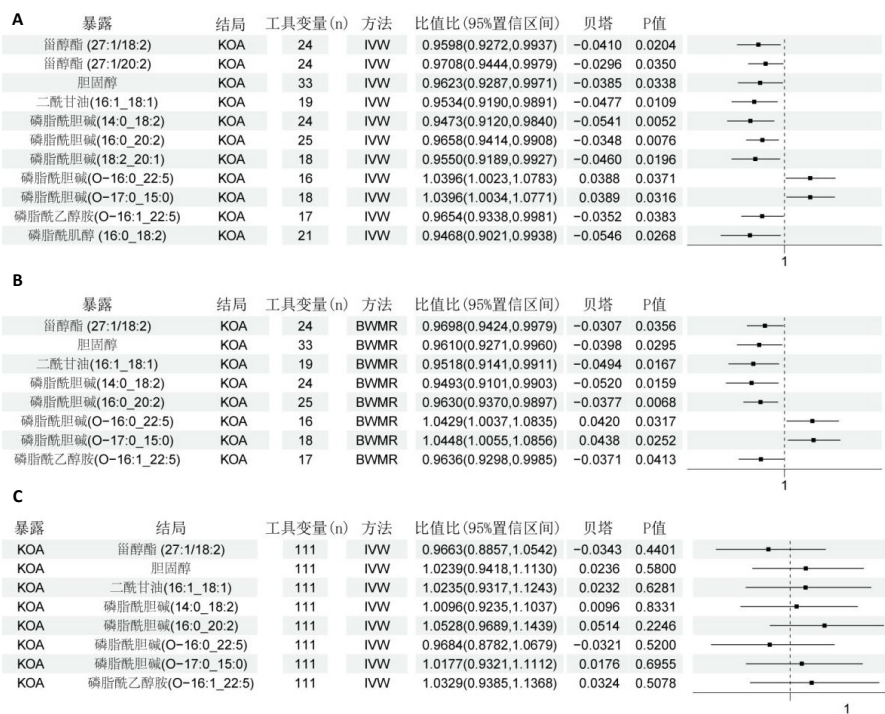
性的  $F$  值最小为 19.53, 表明弱仪器偏差的概率最小。

**2.2 179 种脂质对膝骨关节炎的影响**在逆方差加权方法和贝叶斯加权分析 ( $P < 0.05$ ) 下, 最终确定了 8 种脂质与膝骨关节炎之间存在因果效应 (图 2A, B)。结果显示, 甾醇酯 (27:1/20:2)、胆固醇、二酰甘油 (16:1\_18:1)、磷脂酰胆碱 (14:0\_18:2)/(16:0\_20:2)、磷脂酰乙醇胺 (O-16:1\_22:5) 与膝骨关节炎呈负向关联趋势, 即随着前者表达水平升高, 后者的发生风险会降低, 而磷脂酰胆碱 (O-16:0\_22:5)/(O-17:0\_15:0) 的表达水平对膝骨关节炎存在一个正向调控。此外, 反映这些因果关系的贝塔估计值的方向在 5 种孟德尔随机化方法中是一致的, 这增加了此次研究结果的稳健性。敏感性检验显示, 这些因果关联中不存在异质性和水平多效性 ( $P > 0.05$ ;  $P$  MRPRESSO global tests  $> 0.05$ ), 见表 1。

**2.3 八种脂质对膝骨关节炎的逆向孟德尔随机化分析和 Steiger 方向性测试**通过前面的标准, 确定了 136 个与膝骨关节炎相关的单核苷酸多态性, 将膝骨关节炎视为暴露, 与筛选出的有显著因果的脂质进行双样本孟德尔随机化,  $P > 0.05$  视为不存在反向因果关系 (图 2C)。Steiger 方向性测试可以在正向或反向孟德尔随机化过程进行分析, 如果在正向即脂质到膝骨关节炎的孟德尔随机化分析中进行测试, Correct\_causal\_direction 的结果应显示为 TRUE 并统计学显著 (Steiger\_  $P < 0.05$ ), 见表 1。此次结果表明膝骨关节炎对得出的 8 种脂质没有因果作用。

**2.4 两步孟德尔随机化分析**为探索免疫细胞相关性状作为中介因素在脂质与膝骨关节炎因果效应中的介导作用, 首先在  $P < 0.05$  的统计学标准下, 此次研究进行了免疫细胞和膝骨关节炎之间的孟德尔随机化分析并确定了与其存在因果效应的 45 种免疫细胞; 随后, 再次进行孟德尔随机化分析评估 8 种脂质与 45 种免疫细胞性状的因果关系。

分析结果显示, 一共鉴定出 4 种脂质与 7 种免疫细胞之间的 8 个因果关系对 (图 3), 提示二酰甘油 (16:1\_18:1) 与 CD14 on CD14<sup>+</sup>CD16<sup>-</sup>单



图注: 图 A 示通过逆方差加权 (IVW) 方法确定了 11 种脂质与膝骨关节炎存在因果关系 (比值比  $> 1$  表示正相关,  $< 1$  表示负相关); B 示贝叶斯加权孟德尔随机化 (BWMR) 方法确定了 8 种脂质存在因果关系; C 示 8 种脂质的反向因果关系,  $P$  值均  $> 0.05$ 。

图 2 | 脂质与膝骨关节炎 (KOA) 之间因果关系的森林图

表 1 | 八种脂质与膝骨关节炎初步因果关系的敏感性检验

| 暴露                   | 结局    | 异质性   | 多效性   | MR-PRESSO  |             | Steiger_P 值             |
|----------------------|-------|-------|-------|------------|-------------|-------------------------|
|                      |       |       |       | Global P 值 | Distort P 值 |                         |
| 甾醇酯 (27:1/20:2)      | 膝骨关节炎 | 0.794 | 0.072 | 0.792      | NA          | $3.80 \times 10^{-155}$ |
| 胆固醇                  | 膝骨关节炎 | 0.053 | 0.569 | 0.055      | NA          | $3.06 \times 10^{-162}$ |
| 二酰甘油 (16:1_18:1)     | 膝骨关节炎 | 0.599 | 0.969 | 0.619      | NA          | $3.26 \times 10^{-97}$  |
| 磷脂酰胆碱 (14:0_18:2)    | 膝骨关节炎 | 0.144 | 0.165 | 0.175      | NA          | $3.00 \times 10^{-137}$ |
| 磷脂酰胆碱 (16:0_20:2)    | 膝骨关节炎 | 0.427 | 0.759 | 0.460      | NA          | $1.30 \times 10^{-180}$ |
| 磷脂酰胆碱 (O-16:0_22:5)  | 膝骨关节炎 | 0.539 | 0.251 | 0.607      | NA          | $2.44 \times 10^{-91}$  |
| 磷脂酰胆碱 (O-17:0_15:0)  | 膝骨关节炎 | 0.923 | 0.650 | 0.900      | NA          | $1.11 \times 10^{-83}$  |
| 磷脂酰乙醇胺 (O-16:1_22:5) | 膝骨关节炎 | 0.947 | 0.676 | 0.957      | NA          | $1.27 \times 10^{-77}$  |

表注: 如果 Global  $P$  值显著 ( $P < 0.05$ ), 则表明在整个 IV 集合中存在显著的水平多效性; 而 Distort  $P$  是在 Global  $P < 0.05$  的基础上移除检测到的异常值后来校正水平多效性。因此, 当 Global  $P > 0.05$  时, 表明没有识别出任何异常值, 就不会进行 Distortion Test, 该测试的结果为 NA。



图注: 比值比  $> 1$  表示正相关,  $< 1$  表示负相关。IVW 为逆方差加权法。

图 3 | 与膝骨关节炎存在因果关系的 8 种脂质与 45 种免疫细胞的孟德尔随机化结果森林图

核细胞存在负向调控影响, 同样的, 磷脂酰胆碱 (16:0\_20:2) 对 SSC-A on 浆细胞样树突状细胞, 磷脂酰胆碱 (O-16:0\_22:5) 对 PDL-1 on CD14<sup>+</sup>CD16<sup>-</sup>, 磷脂酰乙醇胺 (O-16:1\_22:5)

对 FSC-A on 单核细胞、SSC-A on 浆细胞样树突状细胞、CD45RA on 初始 CD4<sup>+</sup>T 细胞也存在负向调控。相反, 磷脂酰乙醇胺 (O-16:0\_22:5) 对 HLA DR on CD14<sup>+</sup>CD16<sup>-</sup> 单核细胞、HLA DR

on CD14<sup>+</sup> 单核细胞则是一个正相关的关系。

在敏感性分析中，去除单个单核苷酸多态性不影响脂质与免疫细胞的因果效应。Cochran's Q、MR-Egger 截距检验和 MR-PRESSO 衍生的 P 值均大于 0.05(表 2)，证明不存在异质性和多效性影响。

**2.5 潜在中介效应计算** 发挥中介作用的一个要求是脂质与免疫细胞显著相关。将两两之间都存在显著因果相关的脂质、免疫细胞、膝骨关节炎进行中介分析，分别计算步骤 1(脂质-膝骨关节炎)的总效应、步骤 2(免疫细胞-膝骨关节炎)的间接效应 2、步骤 3(脂质-免疫细胞)的间接效应 1，在确定间接效应后，通过系数乘积法量化所选免疫细胞在特定因果关系中的中介效应，分析结果见表 3。在膝骨关节炎中得到 3 个结果，CD14 on CD14<sup>+</sup>CD16<sup>-</sup> 单核细胞在二酰甘油(16:1\_18:1)抑制膝骨关节炎发生发展过程的介导作用占总效应的 23.63%；PDL-1 on CD14<sup>+</sup>CD16<sup>-</sup> 单核细胞介导磷脂酰胆碱(O-16:0\_22:5)促进膝骨关节炎发生的效应占 45.48%；CD45RA on 初始 CD4<sup>+</sup>T 细胞所占比例较少，在磷脂酰乙醇胺(O-16:1\_22:5)抑制膝骨关节炎的过程中介导作用为 11.85%。

### 3 讨论 Discussion

传统上，血脂水平被认为是受遗传和生活方式因素影响的可改变风险。目前大量观察性研究表明脂质与骨关节炎存在联系<sup>[27]</sup>，脂质代谢紊乱可通过影响关节软骨退变、滑膜炎、骨赘形成、骨髓水肿、细胞膜成分的代谢和流动性等<sup>[28]</sup>，促进骨关节炎的发生发展。然而，可能存在混杂因素的影响造成病因推断的不确定性。为更深入地探究这一关系，在大量公开统计汇总数据的基础上，通过两样本孟德尔随机化方法识别 8 种脂质与膝骨关节炎之间的潜在因果效应。此外，还通过中介分析从遗传学角度确定 3 种免疫细胞在膝骨关节炎的因果效应中发挥的重要调节作用，旨在为临床决策提供了坚实的理论依据。

二酰甘油是一种由甘油和 2 个脂肪酸分子组成的甘油酯类化合物。WU 等<sup>[29]</sup>通过脂质组学结果发现二

表 2 | 脂质与免疫细胞性状因果估值的敏感性分析

| 暴露                   | 结局                                                 | 异质性   | 多效性   | MR-PRESSO  |             |
|----------------------|----------------------------------------------------|-------|-------|------------|-------------|
|                      |                                                    |       |       | Global P 值 | Distort P 值 |
| 二酰甘油 (16:1_18:1)     | CD14 on CD14 <sup>+</sup> CD16 <sup>-</sup> 单核细胞   | 0.543 | 0.376 | 0.545      | NA          |
| 磷脂酰胆碱 (16:0_20:2)    | SSC-A on 浆细胞样树突状细胞                                 | 0.386 | 0.121 | 0.422      | NA          |
| 磷脂酰胆碱 (O-16:0_22:5)  | HLA DR on CD14 <sup>+</sup> CD16 <sup>-</sup> 单核细胞 | 0.586 | 0.940 | 0.571      | NA          |
| 磷脂酰胆碱 (O-16:0_22:5)  | HLA DR on CD14 <sup>+</sup> 单核细胞                   | 0.530 | 0.955 | 0.521      | NA          |
| 磷脂酰胆碱 (O-16:0_22:5)  | PDL-1 on CD14 <sup>+</sup> CD16 <sup>-</sup>       | 0.447 | 0.747 | 0.362      | NA          |
| 磷脂酰乙醇胺 (O-16:1_22:5) | FSC-A on 单核细胞                                      | 0.908 | 0.649 | 0.908      | NA          |
| 磷脂酰乙醇胺 (O-16:1_22:5) | SSC-A on 浆细胞样树突状细胞                                 | 0.935 | 0.595 | 0.899      | NA          |
| 磷脂酰乙醇胺 (O-16:1_22:5) | CD45RA on 初始 CD4 <sup>+</sup> T 细胞                 | 0.579 | 0.333 | 0.621      | NA          |

表注：NA 为未提及。

表 3 | 各种免疫细胞在脂质与膝骨关节炎因果关系中的介导比例

| 暴露                   | 中介因子                                              | 总效应 $\beta_{all}$ | 间接效应 $\beta_1$ | 间接效应 $\beta_2$ | 中介效应   | 中介比例 (%) |
|----------------------|---------------------------------------------------|-------------------|----------------|----------------|--------|----------|
| 二酰甘油 (16:1_18:1)     | CD14 on CD14 <sup>+</sup> CD16 <sup>-</sup> 单核细胞  | -0.048            | -0.165         | 0.068          | -0.011 | 23.63    |
| 磷脂酰胆碱 (O-16:0_22:5)  | PDL-1 on CD14 <sup>+</sup> CD16 <sup>-</sup> 单核细胞 | 0.039             | -0.119         | -0.149         | 0.018  | 45.48    |
| 磷脂酰乙醇胺 (O-16:1_22:5) | CD45RA on 初始 CD4 <sup>+</sup> T 细胞                | -0.035            | -0.164         | 0.025          | -0.004 | 11.85    |

酰甘油在正常大鼠和膝骨关节炎大鼠组织中的表达差异，并通过药物干预使二酰甘油表达恢复进而缓解膝骨关节炎，该研究表明，二酰甘油与膝骨关节炎之间存在正相关，然而，此次研究发现二酰甘油(16:1\_18:1)对膝骨关节炎具有一定的保护作用，其中“(16:1\_18:1)”表示一条脂肪酸链是棕榈油酸(16:1)，另一条脂肪酸链是油酸(18:1)<sup>[30]</sup>。目前尚未有关于该组成下的脂质在膝骨关节炎中的研究，因而此次研究提供了一个方向。

磷脂的主要成分之一为磷脂酰胆碱，对维持机体的生理功能和正常代谢起着关键作用，存在于脑、神经系统、肝脏、心脏、肾脏、血液等组织器官中，是生物膜的重要组成部分，参与细胞运输、氧化磷酸化、吞噬作用、化学和电兴奋等过程。此外，磷脂酰胆碱是滑液和软骨的重要组成部分，具有抑制软骨水化、清除氧自由基、抗粘连等作用<sup>[31]</sup>。此外，ROCHA 等<sup>[32]</sup>通过研究人类滑膜中脂质的丰度和分布发现，与对照组相比，骨关节炎滑膜呈现高水平的磷脂酰胆碱、脂肪酸和溶血磷脂酸，以及低水平的溶血磷脂酰胆碱。也有研究发现，血清溶血性磷脂酰胆碱 18:2 与 44:3 的比率与膝关节软骨体积损失的风险存在较高的高度相关<sup>[33]</sup>。此次研究也证实了这个观点，作者发现了两种磷脂类分子分别对膝骨关节炎有相反的作用，其中磷脂酰胆碱(O-16:0\_22:5)

是膝骨关节炎的风险因素，它是由 1 个甘油骨架、2 个脂肪酸链(1 个是 O-16:0，另一个是 22:5)和 1 个带正电荷的胆碱头基组成；另一个是磷脂酰乙醇胺(O-16:1\_22:5)，由 1 个甘油骨架、2 个脂肪酸链(1 个是 O-16:1，另一个是 22:5)和 1 个乙醇胺头基组成，它对膝骨关节炎具有保护作用。

脂质作为细胞膜的重要组成部分，对免疫细胞的功能至关重要。磷脂酰胆碱、磷脂酰乙醇胺等脂质在维持免疫细胞膜的流动性和结构完整性方面起重要作用，脂质代谢紊乱可能通过促炎症反应和改变软骨细胞功能进而影响骨关节炎。作者在膝骨关节炎中鉴定出了 45 种免疫细胞的显著关系，为了探究免疫细胞是否参与脂质对膝骨关节炎的影响，进一步进行了中介分析，最终发现 3 种免疫细胞的介导作用。首先是 CD14 on CD14<sup>+</sup>CD16<sup>-</sup> 单核细胞，它在二酰甘油(16:1\_18:1)对膝骨关节炎的保护作用中介导了 23.63%。具体而言，CD14 on CD14<sup>+</sup>CD16<sup>-</sup> 单核细胞作为在血液循环中的经典单核细胞，占单核细胞的主要部分(80%-90%)，具有强大的吞噬能力和抗原呈递能力，是主要的炎症应答细胞。它能够分泌多种效应分子，包括细胞因子、髓过氧化物酶和超氧化物，有助于该群体参与各种炎症过程<sup>[34]</sup>。在此次研究中，它与膝骨关节炎呈正相关，与二酰甘油(16:1\_18:1)呈负相关，这意味着二

酰甘油 (16:1\_18:1) 表达升高对膝关节关节炎造成保护作用的过程中 CD14 on CD14<sup>+</sup>CD16<sup>-</sup>单核细胞表达受到抑制可能发挥了作用。

其次, PDL-1 on CD14<sup>+</sup>CD16<sup>-</sup>介导磷脂酰胆碱促进膝关节关节炎发生的比例达到 45.48%。PDL-1 on CD14<sup>+</sup>CD16<sup>-</sup>作为一种不同类型的免疫细胞亚群, 其中 CD14<sup>+</sup>CD16<sup>-</sup>表示不表达 CD14 和 CD16 的单核细胞, 这一特征常用于区分不同类型的免疫细胞。PD-L1 是一种在多种细胞类型上表达的免疫检查点分子, 它与其受体 PD-1 结合, 可以抑制 T 细胞的活化和增殖, 从而发挥免疫抑制功能, 在维持免疫耐受、调节免疫反应、防止自身免疫病以及肿瘤免疫逃逸中起关键作用<sup>[35]</sup>。PD-L1 的表达主要受炎症细胞因子如  $\gamma$ -干扰素、肿瘤坏死因子  $\alpha$ 、白细胞介素 6 和 Toll 样受体的调节<sup>[36]</sup>。具体来说, 在慢性炎症过程中, 炎症细胞因子如  $\gamma$ -干扰素、肿瘤坏死因子  $\alpha$  和白细胞介素 6 与其相应的受体结合, 激活 Janus 激酶信号转导器和转录激活剂、核因子  $\kappa$ B 和上皮间质转化信号通路, 导致 PD-L1 表达上调<sup>[37-38]</sup>。

基于此, 作者假设孟德尔随机化分析发现, 当磷脂酰胆碱水平下降时, PD-L1 的表达上调, PD-L1/PD-1 信号通路的激活可以抑制促炎性 T 细胞的功能, 从而保护关节组织, 进而降低膝关节关节炎发生的风险。

最后是 CD45RA on 初始 CD4<sup>+</sup>T 细胞, 初始 CD4<sup>+</sup>T 细胞是从胸腺出来后还未遇到抗原的细胞, 表现为 CD45RA 高表达, 一旦遇到抗原刺激, 会激活并分化为效应 T 细胞或记忆 T 细胞<sup>[39]</sup>。基于此次研究结果, 作者推测, 在膝关节关节炎环境下, 关节组织的损伤和炎症可能释放自体抗原, 这些抗原可以被抗原呈递细胞 (如树突状细胞) 捕获并呈递给初始 T 细胞, 可能分化为 Th1、Th17 等促炎性细胞, 加剧关节的慢性炎症和组织损伤。然而, 它在介导磷脂酰乙醇胺对膝关节关节炎作用的效应较小, 仅有 11.85%, 这提示其他未知中介因素的存在。

此次研究利用孟德尔随机化研究设计, 在减少反向因果和去除潜在混杂因素影响的基础上, 评估不同种类脂质与膝关节关节炎的因果关系。利

用现有的大规模全基因组关联研究数据, 无需单独开展长期随访, 可节省时间和经费。虽然免疫表型在其中的介导作用结果较少, 但仍然能看出免疫在脂质与膝关节关节炎中的作用, 并且作者也鉴定出了对膝关节关节炎有因果关系的脂质和免疫细胞, 能够为今后的研究提供参考。同时, 此次研究还存在一些不可忽视的局限: 首先, 所选膝关节关节炎数据样本均为欧洲人群, 因果关系在其他人群中是否具有可推广性仍有待验证; 其次, 为纳入更多与脂质相关的遗传变异, 此次分析放宽了工具变量的筛选阈值, 这可能会增加违背孟德尔随机化设计强相关性假设的风险, 但通过对每个单核苷酸多态性的 F 统计量筛选 ( $F > 10$ ) 已排除弱工具变量的干扰; 最后, 在确定中介效应时, 存在两组免疫细胞分型的介导比例较低, 提示其他未知中介因素的存在。

然而, 尽管此次研究的数据来源于欧洲人群, 但通过对比分析, 能够了解到中国人群在脂质代谢方面与欧洲人群存在一些关键差异。例如, 中国人群的遗传背景导致某些脂质代谢相关基因变异频率不同, 传统饮食中碳水化合物的摄入较高, 且脂肪摄入较低, 这些差异可能导致中国人群在三酰甘油和低密度脂蛋白胆固醇水平上与欧洲人群不同, 进而影响膝关节关节炎的风险。因而, 此次研究结果仍然对中国人群有着潜在的应用价值。通过考虑这些代谢差异, 可以开发出更具针对性的干预措施, 例如, 针对中国人群的特定脂质水平进行调整, 或者优化饮食结构, 以适应中国人群的代谢特点, 从而降低膝关节关节炎的风险。此外, 若脂质通过免疫细胞影响膝关节关节炎, 改善脂质代谢可能成为预防该疾病的重要策略。这一研究结果不仅为中国的公共卫生政策提供了数据支持, 也为膝关节关节炎的早期预防和临床干预提供了新的见解。

**结论:** 综上, 此次研究深入探讨了不同种类脂质、免疫细胞性状和膝关节关节炎之间的因果关系, 得到与膝关节关节炎存在因果的脂质 8 种, 免疫细胞 45 种。随后, 通过两步孟德尔随机化方法, 得到了 4 种脂质与 7 种免疫细胞之间的 8 个因果关系对并进

行中介分析, 最终成功识别出 3 种免疫细胞在相应脂质与膝关节关节炎中的介导效应。这一发现有望为膝关节关节炎确定潜在生物标志物和治疗靶点提供方向。

**作者贡献:** 全基因组关联研究数据筛选由霍将、丁宇完成。文章设计、孟德尔随机化分析以及成文由霍将完成。资料收集者由霍将完成。原杰参与审校和终审定稿。

**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:** 该文章撰写遵守了《系统综述和荟萃分析报告规范》(PRISMA 指南)。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发稿宗旨。

## 4 参考文献 References

- [1] HARRELL CR, MARKOVIC BS, FELLABAUM C, et al. Mesenchymal stem cell-based therapy of osteoarthritis: Current knowledge and future perspectives. *Biomed Pharmacother*. 2019;109:2318-2326.
- [2] MANDL LA. Osteoarthritis year in review 2018: clinical. *Osteoarthritis Cartilage*. 2019; 27(3):359-364.
- [3] SACITHARAN PK. Ageing and Osteoarthritis. *Subcell Biochem*. 2019;91:123-159.
- [4] BORÉN J, CHAPMAN MJ, KRAUSS RM, et al. Low-density lipoproteins cause atherosclerotic cardiovascular disease: pathophysiological, genetic, and therapeutic insights: a consensus statement from the European Atherosclerosis Society Consensus Panel. *Eur Heart J*. 2020;41(24):2313-2330.
- [5] HAARTMANS MJJ, CLAES BSR, EIJKEL GB, et al. Matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry imaging (MALDI-MSI) reveals potential lipid markers between infrapatellar fat pad biopsies of osteoarthritis and cartilage defect patients. *Anal Bioanal Chem*. 2023;415(24): 5997-6007.

- [6] LOEF M, VAN DE STADT L, BÖHRINGER S, et al. The association of the lipid profile with knee and hand osteoarthritis severity: the IMI-APPROACH cohort. *Osteoarthritis Cartilage*. 2022;30(8):1062-1069.
- [7] KOH JH, YOON SJ, KIM M, et al. Lipidome profile predictive of disease evolution and activity in rheumatoid arthritis. *Exp Mol Med*. 2022;54(2):143-155.
- [8] POUSINIS P, GOWLER PRW, BURSTON JJ, et al. Lipidomic identification of plasma lipids associated with pain behaviour and pathology in a mouse model of osteoarthritis. *Metabolomics*. 2020;16(3): 32.
- [9] ZHANG W, SUN G, AITKEN D, et al. Lysophosphatidylcholines to phosphatidylcholines ratio predicts advanced knee osteoarthritis. *Rheumatology (Oxford)*. 2016;55(9): 1566-1574.
- [10] VASSILIOU E, FARIAS-PEREIRA R. Impact of Lipid Metabolism on Macrophage Polarization: Implications for Inflammation and Tumor Immunity. *Int J Mol Sci*. 2023; 24(15):12032.
- [11] PEETERS R, JELLUSOVA J. Lipid metabolism in B cell biology. *Mol Oncol*. 2024;18(7): 1795-1813.
- [12] LIM SA, SU W, CHAPMAN NM, et al. Lipid metabolism in T cell signaling and function. *Nat Chem Biol*. 2022;18(5):470-481.
- [13] ALBEITUNI S, STIBAN J. Roles of Ceramides and Other Sphingolipids in Immune Cell Function and Inflammation. *Adv Exp Med Biol*. 2019;1161:169-191.
- [14] GAO S, ZENG Q, ZENG Y, et al. High density lipoprotein inhibited group II innate lymphoid cells proliferation and function in allergic rhinitis. *Allergy Asthma Clin Immunol*. 2022;18(1):40.
- [15] LIN J, ZHOU J, XU Y. Potential drug targets for multiple sclerosis identified through Mendelian randomization analysis. *Brain*. 2023;146(8):3364-3372.
- [16] OTTENSMAANN L, TABASSUM R, RUOTSALAINEN SE, et al. Genome-wide association analysis of plasma lipidome identifies 495 genetic associations. *Nat Commun*. 2023;14(1):6934.
- [17] ORRÙ V, STERI M, SIDORE C, et al. Complex genetic signatures in immune cells underlie autoimmunity and inform therapy. *Nat Genet*. 2020;52(10):1036-1045.
- [18] TACHMAZIDOU I, HATZIKOTULAS K, SOUTHAM L, et al. Identification of new therapeutic targets for osteoarthritis through genome-wide analyses of UK Biobank data. *Nat Genet*. 2019;51(2): 230-236.
- [19] EMDIN CA, KHERA AV, KATHIRESAN S, Mendelian Randomization. *JAMA*. 2017; 318(19):1925-1926.
- [20] 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.
- [21] WANG Q, DAI H, HOU T, et al. Dissecting Causal Relationships Between Gut Microbiota, Blood Metabolites, and Stroke: A Mendelian Randomization Study. *J Stroke*. 2023;25(3):350-360.
- [22] BOWDEN J, DEL GRECO MF, MINELLI C, et al. Assessing the suitability of summary data for two-sample Mendelian randomization analyses using MR-Egger regression: the role of the I2 statistic. *Int J Epidemiol*. 2016;45(6):1961-1974.
- [23] PALAZZO C, NGUYEN C, LEFEVRE-COLAU MM, et al. Risk factors and burden of osteoarthritis. *Ann Phys Rehabil Med*. 2016; 59(3):134-138.
- [24] BOWDEN J, DEL GRECO MF, MINELLI C, et al. Improving the accuracy of two-sample summary-data Mendelian randomization: moving beyond the NOME assumption. *Int J Epidemiol*. 2019;48(3):728-742.
- [25] ZHAO J, MING J, HU X, et al. Bayesian weighted Mendelian randomization for causal inference based on summary statistics. *Bioinformatics*. 2020;36(5): 1501-1508.
- [26] ZHONG Y, WANG F, MENG X, et al. The associations between gut microbiota and inflammatory skin diseases: a bi-directional two-sample Mendelian randomization study. *Front Immunol*. 2024;15:1297240.
- [27] HERRERO-MANLEY L, ALABAJOS-CEA A, SUSO-MARTÍ L, et al. Serum lipid biomarkers and inflammatory cytokines associated with onset and clinical status of patients with early knee osteoarthritis. *Front Nutr*. 2023; 10:1126796.
- [28] NANO JL, NOBILI C, GIRARD-PIPAU F, et al. Effects of fatty acids on the growth of Caco-2 cells. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 2003;69(4):207-215.
- [29] WU P, HUANG Z, SHAN J, et al. Interventional effects of the direct application of “Sanse powder” on knee osteoarthritis in rats as determined from lipidomics via UPLC-Q-Exactive Orbitrap MS. *Chin Med*. 2020;15:9.
- [30] MURAKAMI C, HOSHINO F, SAKAI H, et al. Diacylglycerol kinase delta and sphingomyelin synthase-related protein functionally interact via their sterile alpha motif domains. *J Biol Chem*. 2020;295(10): 2932-2947.
- [31] HILLS BA, THOMAS K. Joint stiffness and ‘articular gelling’: inhibition of the fusion of articular surfaces by surfactant. *Br J Rheumatol*. 1998;37(5):532-538.
- [32] ROCHA B, CILLERO-PASTOR B, RUIZ-ROMERO C, et al. Identification of a distinct lipidomic profile in the osteoarthritic synovial membrane by mass spectrometry imaging. *Osteoarthritis Cartilage*. 2021;29(5):750-761.
- [33] ZHAI G, PELLETIER JP, LIU M, et al. Activation of The Phosphatidylcholine to Lysophosphatidylcholine Pathway Is Associated with Osteoarthritis Knee Cartilage Volume Loss Over Time. *Sci Rep*. 2019;9(1):9648.
- [34] KAPELLOS TS, BONAGURO L, GEMÜND I, et al. Human Monocyte Subsets and Phenotypes in Major Chronic Inflammatory Diseases. *Front Immunol*. 2019;10: 2035.
- [35] KYTHREOTOU A, SIDDIQUE A, MAURI FA, et al. PD-L1. *J Clin Pathol*. 2018;71(3): 189-194.
- [36] CHA JH, CHAN LC, LI CW, et al. Mechanisms Controlling PD-L1 Expression in Cancer. *Mol Cell*. 2019;76(3):359-370.
- [37] GARCIA-DIAZ A, SHIN DS, MORENO BH, et al. Interferon Receptor Signaling Pathways Regulating PD-L1 and PD-L2 Expression. *Cell Rep*. 2017;19(6):1189-1201.
- [38] WANG X, YANG L, HUANG F, et al. Inflammatory cytokines IL-17 and TNF-alpha up-regulate PD-L1 expression in human prostate and colon cancer cells. *Immunol Lett*. 2017;184:7-14.
- [39] EZAWA K, YAMAMURA M, MATSUI H, et al. Comparative analysis of CD45RA- and CD45RO-positive CD4+T cells in peripheral blood, synovial fluid, and synovial tissue in patients with rheumatoid arthritis and osteoarthritis. *Acta Med Okayama*. 1997; 51(1):25-31.

(责任编辑: GD, ZN, WL, ZLJ)