

孟德尔随机化分析在骨质疏松症病因学研究中的应用

魏晓伟 张晓梅*

北京大学国际医院, 北京 102206

中图分类号: R681 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2020) 06-0928-04

摘要: 发现可控的致病因素是骨质疏松症防治的必要条件。利用自由组合定律原理, 孟德尔随机化分析克服传统观察性研究和随机对照研究的局限性, 能够反映暴露因素和疾病间的真实联系, 近年来被广泛应用于疾病病因学的研究。通过孟德尔随机化方法, 国内外学者在对传统观察性研究中发现的骨质疏松相关因素进行分析后发现, 欧洲人群中维生素 D 水平、奶制品摄入、体脂含量、尿酸水平等与骨质疏松的发病无直接因果关系, 而雌激素水平下降、青春期延迟、吸烟等因素对骨质疏松发生有促进作用。在亚洲人群研究中探索了维生素 D 水平与骨质疏松症的因果关系, 与欧洲人群取得一致性结论。孟德尔随机化的应用能够解决传统观察性研究及随机对照研究中因果推断存在的问题, 从而推动骨质疏松病因学研究的进展, 对于指导骨质疏松的防治策略, 具有广阔的应用前景。

关键词: 孟德尔随机化分析; 骨质疏松; 病因学

Application of Mendelian randomization analysis in the etiology of osteoporosis

WEI Xiaowei, ZHANG Xiaomei*

Peking University International Hospital, Beijing 102206, China

* Corresponding author: ZHANG Xiaomei, Email: zhangxiaomei@pkuhi.edu.cn

Abstract: To identify causative factors is essential for prevention and treatment of osteoporosis. After briefly introducing mendelian randomization, we summarized mendelian randomization studies on the etiology of osteoporosis to provide new ideas on the causation of osteoporosis. By overcoming the limitations of traditional observational studies and randomized controlled studies, Mendelian randomization reflects the real relationship between exposure factors and diseases. Researchers over the world explored the relationship between risk factors revealed in traditional observational studies and osteoporosis using Mendelian randomization. No causative relationship was found between vitamin D, dairy intake, body lipid or uric acid and osteoporosis in European population. Lower estradiol, late puberty, and smoking promote the occurrence of osteoporosis. A study in Asian population analyzed vitamin D levels with osteoporosis and reached consistent conclusion with the European population. By finding out causative factors of osteoporosis, Mendelian randomization promoted development of osteoporosis etiology and guided the prevention and treatment of osteoporosis. More Mendelian randomization researches should be carried out for more understanding of osteoporosis.

Key words: mendelian randomization, osteoporosis, etiology

骨质疏松症 (osteoporosis, OP) 是一种以骨量低, 骨组织微结构损坏, 导致骨脆性增加, 易发生骨折为特征的全身性骨病。作为一种与增龄相关的骨骼疾病, 骨质疏松症患病率随着人口老龄化程度的加剧, 成为重要的公共卫生问题^[1]。发现导致骨质疏松的可控因素, 从而采取积极的措施防治骨质疏松具有重大意义。

既往的观察性研究发现, 雌激素水平低、体重指

数低、体力活动缺乏、吸烟、酗酒以及钙和维生素 D 的摄入不足与骨质疏松症的发病风险相关, 但因无法避免混杂干扰、因果倒置、回归稀释等影响, 观察性研究成果无法为防治策略的制定提供强有力的证据。随机对照研究是得到因果关系的金标准, 但受到费用、伦理等方面的限制, 难以大量开展。孟德尔随机化分析能够克服上述两者的不足, 协助明确骨质疏松的致病因素, 成为近几年炙手可热的研究手段, 使骨质疏松致病因素的研究有了质和量的突破。

* 通信作者: 张晓梅, Email: zhangxiaomei@pkuhi.edu.cn

1 孟德尔随机化分析

1.1 原理

孟德尔随机化分析是工具变量法和孟德尔遗传定律的结合。工具变量法是指,所要研究的暴露因素的差异由某基因型的差异决定或与该基因型的差异高度吻合,则选择该基因型为工具变量,通过研究工具变量与结局之间的关系,来推断暴露因素与结局的关系。孟德尔遗传定律中的自由组合定律决定了在根据工作变量分组的同时,与其他混杂因素的基因自由组合,实现了随机化分配。

1.2 优点

孟德尔随机化分析无需人为干预,突破了随机对照研究费用和有害因素暴露的伦理限制,与观察性分析比较具有以下优点:(1)保证暴露与结局的先后顺序,避免因果倒置;(2)减少混杂因素对结果的影响;(3)可进行长时间暴露与结局的研究(工具变量终生有效);(4)基因型检测的高准确性可有效避免检测误差导致的回归稀释。

1.3 工具变量的必备条件

为了得到可靠的研究结果,必须保证工具变量的有效性。工具变量的必备条件包括:(1)与暴露

因素高度相关;(2)与可能影响暴露-结局的混杂因素无关;(3)仅通过所研究的暴露因素与结局相关。

1.4 局限性

孟德尔随机化极大程度克服了传统研究的缺点,但仍存在一定的局限性:(1)连锁不平衡。工具变量如果与代表其他与结局具有因果关系的等位基因存在连锁不平衡,则结果可能出现假阳性;(2)人群分层。工具变量和结局在不同种族人群中分布有明显种族差异性;(3)基因多效性。该工具变量可同时控制多个可能与结局相关的暴露因素,从而影响结果判读,应尽量避免,但无法完全避免;(4)其他。工具变量对暴露因素的微效性、社会压力干扰基因型控制行为、发育中的代偿机制等均可导致假阴性结果的出现。

2 孟德尔随机化分析与骨质疏松症

2009 年一项研究儿童体脂对骨量影响的孟德尔随机化分析最早将孟德尔随机化应用于骨代谢研究^[2]。自 2014 年开始,应用孟德尔随机化研究骨质疏松致病因素的文章大量发表,对既往观察性研究发现的骨质疏松危险因素进行探讨,为防治骨质疏松提供高质量的证据(表 1)。

表 1 常见骨质疏松相关因素与骨质疏松因果关系的孟德尔随机化分析结果
Table 1 Mendel's randomized analysis of common osteoporosis risk factors of osteoporosis

危险因素	作者	机构	人群	样本量	结果	发表年份
维生素 D	李珊珊等	上海交通大学	中国绝经后妇女	1 824	阴性	2016
	Larsson SC, et al	瑞典卡罗琳斯卡学院	欧裔	42 274	阴性	2018
	Sun JY, et al	韩国延世大学	欧裔	61 079	阴性	2019
奶制品摄入	Q Yang, et al	香港大学(中国香港)	欧裔	53 236	阴性	2017
	Bergholdt HKM, et al	丹麦多中心	北欧	97 811	阴性	2018
糖代谢	Ahmad OS, et al	加拿大麦吉尔大学	欧裔	133 010	阳性 (正向)	2016
	Trajanoska K, et al	GEFOS 联盟*	23 个队列欧裔	99 282	阳性 (正向)	2018
体脂含量	Timpson NJ, et al	布里斯托尔大学	欧裔儿童	1 824	阳性 (正向)	2009
	Sun JY, et al	泰国国立玛希隆大学	泰国人	2 154	阳性 (正向)	2013
	Kemp JP, et al	布里斯托尔大学	欧裔儿童	1 824	阳性 (正向)	2016
炎症因子	Huang JV, et al	香港大学(中国香港)	欧裔	32 965	阴性	2017
尿酸	Dalbeth N, et al	新西兰奥克兰大学	Framingham 第 3 代队列	2 501	阴性	2015
饮酒	Guo R, et al	盛京医院	欧裔	478 656	阴性	2018
吸烟	Guo R, et al	盛京医院	欧裔	478 656	阳性 (反向)	2018
促甲状腺素	van Vliet, NA et al	荷兰莱顿大学	欧裔	32 735	阴性	2018
青春期延迟	Trajanoska K, et al	GEFOS 联盟	欧裔	26 973	阳性 (反向)	2018
雌激素	Larsson SC, et al	瑞典卡罗琳斯卡学院	欧裔	32 965	阳性 (正向)	2018

注:GEFOS (genetic factors for osteoporosis consortium):骨质疏松遗传因素联盟。

2.1 维生素 D

维生素 D 因其在钙磷代谢中的重要作用被广泛应用于骨质疏松的预防和治疗。然而,多项随机对照研究^[3]提示,健康人群补充维生素 D 并不能降低骨质疏松或脆性骨折的发生风险。由于受到干预时间短、干预人群与普通人群区别较大的限制,上述研究结果并未被国内外膳食指南和骨质疏松诊疗指南采纳应用。李珊珊等对 1 824 名绝经后中国妇女进行孟德尔随机化分析,并未发现血清 25 羟维生素 D 浓度和骨代谢存在关联^[4]。2018 年的一项孟德尔随机化分析囊括了 32 965 个来自骨质疏松症联合会 (GEFOS) 和 142 487 个英国生物银行的欧裔个体,也未发现两者的关联^[5]。2019 年一项对欧裔人群的研究得到了相同的结论^[6]。

2.2 奶制品摄入

奶制品可以提供骨骼形成所必须的钙和蛋白质,是公认的防治骨质疏松的理想食物,但奶制品摄入量与骨质疏松的发生是否存在关联仍存在争论。一项涉及 53 236 个欧裔个体的孟德尔随机化分析发现,奶制品摄入与骨密度无相关性^[7]。Bergholdt 等^[8]对 3 个丹麦队列里共 97 811 个白人个体进行分析,同样否定了奶制品摄入与腰椎和髌部骨密度 (bone mineral density, BMD) 的因果关系,但发现奶制品摄入增加与股骨颈 BMD 升高存在相关性。

2.3 糖尿病与空腹血糖

在观察性研究中发现,2 型糖尿病患者及高空腹血糖可能与高 BMD 相关^[9],但由于 2 型糖尿病患者体质量指数 (body mass index, BMI) 均值高于普通人群, BMI 对 BMD 的影响作为混杂因素难以避免,而降糖药物的干预使空腹血糖水平与 BMD 相关性的研究变得困难。Omar S Ahmad 等学者^[10]通过排除与肥胖相关的 2 型糖尿病工作变量,消除 BMI 对 BMD 的影响,在样本量十余万的欧裔人群中发现了与观察性研究一致的结果:T2DM 和空腹血糖对 BMD 有弱的正向影响。Katerina Trajanoska 等学者^[11]对来自 23 个欧裔队列分析得到类似的结论,同时他们还发现,1 型糖尿病与 BMD 并不存在因果关系。

2.4 体脂含量

众所周知,体重与 BMD 呈正相关,而体脂含量 (脂肪组织所占体重比例) 对 BMD 的作用存在争议。为了解决这个问题, Timpson 等学者^[2]首次

将孟德尔随机化分析应用于骨质疏松方面的研究,在平均年龄 9.9 岁的 7 470 名儿童中证实了高体脂含量可导致 BMD 升高。2016 年,该课题组考虑到上述研究选取的工具变量存在多效性,即可通过影响肌肉含量影响结果的准确性,所以应用相同队列的儿童进一步完善该研究,选取更特异的工具变量探讨两者的关系,再次证实体脂可提高 BMD,并提示这种作用主要存在于承重部位的骨骼中^[12]。泰国研究团队^[13]在 2 154 个成人中进行体脂含量对 BMD 作用的孟德尔随机分析,发现体脂含量仅影响股骨 BMD,椎体 BMD 水平与体脂含量并无相关性。

2.5 炎症因子

越来越多的研究揭示了炎症因子在糖尿病、肥胖等慢性疾病中的致病作用,骨质疏松与炎症因子的关系也备受瞩目。多个观察性研究^[14-17]分析了 C 反应蛋白 (CRP)、白介素-6 (IL-6)、单核细胞趋化蛋白-1 (MCP-1) 等炎症因子与骨质疏松的相关性,结论并不一致。一项研究^[18]运用孟德尔随机化方法分析欧洲人群中 CRP、MCP-1 等炎症因子与骨质疏松的关系,并未发现炎症因子对骨质疏松的致病作用。

2.6 尿酸

观察性研究发现,尿酸水平和骨密度呈正相关,尿酸水平升高,脆性骨折发生率减少^[19-20]。如果尿酸与骨密度存在因果关系,就意味着目前被广泛采纳的对于痛风患者的强化降尿酸治疗可能增加骨质疏松的风险。Nicola Dalbeth 等^[21]为了消除与尿酸相关的体重、利尿剂、激素等混杂因素的影响,运用孟德尔随机化探究尿酸与骨密度的因果关系。通过对 Framingham 心血管研究中的第 3 代队列中的 2 501 个体进行分析,并未发现尿酸与骨密度的相关性。

2.7 其他

随着孟德尔随机化分析在骨质疏松发病机制领域的广泛应用,对于雌激素^[5]、青春期延迟^[11]、促甲状腺素^[22]、吸烟^[23]、饮酒^[23]、自身免疫疾病^[11]等可能影响骨质疏松发生发展的危险因素的孟德尔随机化分析也在近几年陆续开展。上述研究中证实了雌激素水平下降、青春期延迟、吸烟等因素对骨质疏松的促进作用,否定了促甲状腺素、饮酒、类风湿关节炎及炎症性肠病等自身免疫病参与骨质疏松发病的过程。

3 小结

孟德尔随机化分析虽然在流行病学病因推断方面的应用仍处于起步期,但由于和传统研究相比具有其独特优势,得到了国内外学者迅速广泛的认可和应用,推动了疾病发病因素的研究。在骨质疏松症方面,应用孟德尔随机化分析,探讨了维生素D、奶制品摄入、糖尿病等多种传统认为与骨质疏松密切相关,而观察性研究结果却充满争议的因素与骨质疏松的因果关系,为骨质疏松发病机制的探讨提供了思路,为骨质疏松防治策略提供了证据。然而,不可忽略的是,目前研究仍存在以下问题有待解决:基因微效性、研究人群数量相对较少,可能导致假阴性结果;已发表研究主要集中于欧洲人群,缺乏亚洲等其他人群相关研究报道;缺乏因果关系证实后发病机制的进一步探索等,要求需要更大样本量、多人种验证及后续基础研究的跟进。未来一段时间,孟德尔随机化研究将得到更广阔地应用和发展,在疾病病因的研究中发挥更为显著的作用。

【参 考 文 献】

[1] 中华医学会骨质疏松和骨矿盐疾病分会. 原发性骨质疏松症诊疗指南(2017)[J]. 中华骨质疏松和骨矿盐疾病杂志, 2017,10(5):1-30.

[2] Timpson NJ, Sayers A, Davey-Smith G, et al. How does body fat influence bone mass in childhood? A Mendelian randomization approach[J]. J Bone Miner Res, 2009, 24(3):522-533.

[3] Reid IR, Bolland MJ, Grey A. Effects of vitamin D supplements on bone mineral density: a systematic review and meta-analysis[J]. Lancet, 2014, 383(9912):146-155.

[4] Li SS, Gao LH, Zhang XY, et al. Genetically low vitamin D levels, bone mineral density, and bone metabolism markers: A mendelian randomization study[J]. Sci Rep, 2016, 6:33202.

[5] Larsson SC, Melhus H, Michaelsson K. Circulating serum 25-hydroxyvitamin D levels and bone mineral density: mendelian randomization study[J]. J Bone Miner Res, 2018, 33(5):840-844.

[6] Sun JY, Zhao M, Hou Y, et al. Circulating serum vitamin D levels and total body bone mineral density: A Mendelian randomization study[J]. J Cell Mol Med, 2019, 23(3):2268-2271.

[7] Yang Q, Lin SL, Au Yeung SL, et al. Genetically predicted milk consumption and bone health, ischemic heart disease and type 2 diabetes: a Mendelian randomization study[J]. Eur J Clin Nutr, 2017, 71(8):1008-1012.

[8] Bergholdt HKM, Larsen MK, Varbo A, et al. Lactase persistence, milk intake, hip fracture and bone mineral density: a study of 97 811 Danish individuals and a meta-analysis[J]. J Intern Med, 2018, 284(3):254-269.

[9] Schwartz AV, Vittinghoff E, Bauer DC, et al. Association of

BMD and FRAX score with risk of fracture in older adults with type 2 diabetes[J]. JAMA, 2011, 305(21):2184-2192.

[10] Ahmad OS, Leong A, Miller JA, et al. A mendelian randomization study of the effect of type-2 diabetes and glycemic traits on bone mineral density[J]. J Bone Miner Res, 2017, 32(5):1072-1081.

[11] Trajanoska K, Morris JA, Oei L, et al. Assessment of the genetic and clinical determinants of fracture risk: genome wide association and mendelian randomisation study[J]. BMJ, 2018, 362:k3225.

[12] Kemp JP, Sayers A, Smith GD, et al. Using Mendelian randomization to investigate a possible causal relationship between adiposity and increased bone mineral density at different skeletal sites in children[J]. Int J Epidemiol, 2016, 45(5):1560-1572.

[13] Warodomwicht D, Sritara C, Thakkestian A, et al. Causal inference of the effect of adiposity on bone mineral density in adults[J]. Clin Endocrinol (Oxf), 2013, 78(5):694-699.

[14] Sponholtz TR, Zhang X, Fontes JD, et al. Association between inflammatory biomarkers and bone mineral density in a community-based cohort of men and women[J]. Arthritis Care Res (Hoboken), 2014, 66(8):1233-1240.

[15] Berglundh S, Malmgren L, Luthman H, et al. C-reactive protein, bone loss, fracture, and mortality in elderly women: a longitudinal study in the OPRA cohort[J]. Osteoporos Int, 2015, 26(2):727-735.

[16] Kania DM, Binkley N, Checovich M, et al. Elevated plasma levels of interleukin-6 in postmenopausal women do not correlate with bone density[J]. J Am Geriatr Soc, 1995, 43(3):236-239.

[17] Cauley JA, Barbour KE, Harrison SL, et al. Inflammatory markers and the risk of hip and vertebral fractures in men: the osteoporotic fractures in men (MrOS)[J]. J Bone Miner Res, 2016, 31(12):2129-2138.

[18] Huang JV, Schooling CM. Inflammation and bone mineral density: A Mendelian randomization study[J]. Sci Rep, 2017, 7(1):8666.

[19] Sritara C, Ongphiphadhanakul B, Chailurkit L, et al. Serum uric acid levels in relation to bone-related phenotypes in men and women[J]. J Clin Densitom, 2013, 16(3):336-340.

[20] Lane NE, Parimi N, Lui LY, et al. Association of serum uric acid and incident nonspine fractures in elderly men: the Osteoporotic Fractures in Men (MrOS) study[J]. J Bone Miner Res, 2014, 29(7):1701-1707.

[21] Dalbeth N, Topless R, Flynn T, et al. Mendelian randomization analysis to examine for a causal effect of urate on bone mineral density[J]. J Bone Miner Res, 2015, 30(6):985-991.

[22] van Vliet NA, Noordam R, van Klinken JB, et al. Thyroid stimulating hormone and bone mineral density: evidence from a two-sample mendelian randomization study and a candidate gene association study[J]. J Bone Miner Res, 2018, 33(7):1318-1325.

[23] Guo R, Wu L, Fu Q. Is there causal relationship of smoking and alcohol consumption with bone mineral density? A Mendelian randomization study[J]. Calcif Tissue Int, 2018, 103(5):546-553.

(收稿日期: 2019-05-16;修回日期: 2019-07-06)