孟德尔随机化

DOI：10.13406/j.cnki.cyxb.003396

胃食管反流病增加慢性阻塞性肺疾病的患病风险：一项两样本双向孟德尔随机化研究

牛晓亚[1]，熊雅俊[1]，蔡梦婷[1]，陈　宇[1]，宋春花[2]，许爱国[1]

（1.郑州大学第一附属医院呼吸与危重症医学科，郑州　450000；2.郑州大学公共卫生学院流行病学教研室，郑州　450000）

【摘　要】目的：采用两样本双向孟德尔随机化（Mendelian randomization，MR）方法研究胃食管反流病（gastroesophageal reflux disease，GERD）与慢性阻塞性肺疾病（chronic obstructive pulmonary disease，COPD）的因果关系。**方法：**基于大规模全基因组关联研究（genome-wide association studies，GWAS）汇总数据，选择相互独立且与胃食管反流病及COPD高度相关的单核苷酸多态性（single nucleotide polymorphism，SNP）作为工具变量。采用逆方差加权法固定效应模型（inverse variance weighted-fixed effects，IVW-FE）为主要分析方法，简单中位数法、加权中位数法、MR Egger回归法进行结果验证和稳定性检验；采用*F*统计量、Cochran *Q*检验、MR Egger截距测试、孟德尔随机多态性残差和离群值（mendelian randomization pleiotropy residual sum and outlier，MR-PRESSO）检验、“留一法”进行敏感性分析。以比值比（odds ratio，*OR*）及95%置信区间（confidence interval，CI）作为效应指标对胃食管反流病及COPD的双向因果关系进行探讨。**结果：**IVW-FE分析表明胃食管反流病可增加COPD的患病风险（*OR*=1.757，95%CI=1.425~2.166，*P*=0.000），且在简单中位数法、加权中位数法中被证实。然而MR Egger回归法未显示出二者之间的因果关联。在反向MR分析中，IVW-FE分析显示没有证据表明COPD增加胃食管反流病的发病风险（*OR*=0.999，95%CI=0.962~1.037，*P*=0.962），同样简单中位数法、加权中位数法、MR Egger回归法未发现二者存在因果关联。工具变量的*F*值均大于10，不存在弱工具变量；Cochran *Q*检验、MR Egger截距测试、MR-PRESSO检验表明工具变量间不存在异质性或水平多效性；“留一法”分析显示没有单个SNP对整体结果有较大影响。**结论：**胃食管反流病与COPD的风险增加有显著的因果关系，但是没有发现COPD导致胃食管反流病风险增加的证据。

【关键词】慢性阻塞性肺疾病；胃食管反流病；孟德尔随机化；因果关系

【中图分类号】R563　　**【文献标志码】**A　　**【收稿日期】**2023-09-15

Gastroesophageal reflux disease causes an increased risk of chronic obstructive pulmonary disease: a two-sample bidirectional Mendelian randomization study

Niu Xiaoya[1]，*Xiong Yajun*[1]，*Cai Mengting*[1]，*Chen Yu*[1]，*Song Chunhua*[2]，*Xu Aiguo*[1]

（*1. Department of Respiratory and Critical Care Medicine，The First Affiliated Hospital of Zhengzhou University；*

2. Department of Epidemiology，College of Public Health，Zhengzhou University）

【Abstract】*Objective*：To investigate the causal relationship between gastroesophageal reflux disease（GERD）and chronic obstructive pulmonary disease（COPD）using two-sample bidirectional Mendelian randomization（MR）. ***Methods*：**Based on the pooled data from large-scale genome-wide association studies（GWAS），single nucleotide polymorphisms（SNPs）which were independent of each other and highly correlated with GERD and COPD were selected as instrumental variables. The inverse-variance weighted fixed-effects（IVW-FE）model was used as the main analysis method，while simple median，weighted median，and MR-Egger regression methods were used to validate the results and test the stability. The *F*-statistic，Cochran's Q test，MR-Egger intercept test，Mendelian randomization pleiotropy residual sum and outlier（MR-PRESSO）test，and leave-one-out method were used for sensitivity analysis. The odds ratio（*OR*）and 95% confidence interval（CI）were used as effect sizes for the bidirectional causal relationship between GERD and COPD. ***Results*：**The IVW-FE analysis showed that GERD increased the risk of COPD（*OR*=1.757，95%CI=1.425-2.166，*P*=

作者介绍：牛晓亚，Email：niuxy111@163.com，

研究方向：呼吸病学和危重症医学。

通信作者：许爱国，Email：aiguoxu@hotmail.com。

基金项目：河南省医学科技攻关计划资助项目（编号：SBGJ202001006）。

优先出版：https://link.cnki.net/urlid/50.1046.R.20231227.1635.034（2023-12-29）

0.000), which was confirmed by the simple median and weighted median methods. However, no causal relationship between the two factors was shown by the MR-Egger method. In the inverse MR analysis, there was no evidence of increased risk of GERD caused by COPD using IVW-FE (*OR*=0.999, 95%CI=0.962-1.037, *P*=0.962). Similarly, no association between the two factors was found using the simple median, weighted median, and MR-Egger regression methods. The *F*-statistic of the instrumental variable was greater than 10, which showed that there was no weak instrumental variable. The Cochran's Q test, MR-Egger intercept test, and MR-PRESSO test did not show heterogeneity or horizontal pleiotropy between instrumental variables. The leave-one-out analyses indicated that no single SNP had a significant effect on the overall outcome. ***Conclusion***: GERD is significantly and causally associated with an increased risk of COPD. However, there is no evidence suggesting that COPD causes an increased risk of GERD.

【Key words】chronic obstructive pulmonary disease; gastroesophageal reflux disease; Mendelian randomization; causal relationship

慢性阻塞性肺疾病（chronic obstructive pulmonary disease，COPD）是以慢性呼吸道症状如呼吸困难、咳嗽、咳痰为特征的一种异质性疾病，由于气道异常（支气管炎、细支气管炎）或肺泡异常（肺气肿）导致持续性通常是进行性的气流阻塞[1]。在过去的几十年中，COPD 是全球范围内报道最多的呼吸系统疾病，患病人数达 3.91 亿人[2]。预计到 2030 年，COPD 会成为全球第三大患病及死亡原因[3]，造成了严重的疾病负担。

胃食管反流病（gastroesophageal reflux disease，GERD）是上消化道最常见的疾病之一，由于胃内容物反流到食道导致胃灼热、反流等不适症状或并发症，同时可伴有食管外表现包括喉部和肺部症状，如声音嘶哑、慢性咳嗽、咽喉炎，以及吸入性肺炎、肺纤维化等疾病[4]。胃食管反流病在世界范围内十分常见，影响 15%~20% 的人口[5]，随着生活方式和饮食结构的改变，发病率在我国和全球范围内均呈现逐年上升的趋势。

既往大量观察性研究证据表明，胃食管反流病与 COPD 存在一定的相关性，胃食管反流病可能会促进 COPD 的进展。同时，COPD 引起的胸腔压力变化可能增加发生胃食管反流病的风险[6-9]。然而，由于传统观察性研究通常样本量有限，易受到吸烟等混杂因素及反向因果关系等的影响，胃食管反流病是 COPD 的原因还是结果仍存在争议，因此二者的因果关系仍需进一步调查。与观察关联不同，基因关联可以有效避免后天混杂因素及反向因果的影响[10]，因为等位基因在受孕时随机分配，且基因型先于疾病的发生，不受环境、生活方式和社会经济等影响。因此，本研究采用双向两样本孟德尔随机化（Mendelian randomization，MR）方法，与已知和暴露因素强相关的遗传变异如单核苷酸多态性（single nucleotide polymorphism，SNP）作为工具变量进行孟德尔随机化分析，进一步探讨胃食管反流病和 COPD 的因果效应及其方向性。

1 材料与方法

1.1 研究设计

孟德尔随机化是一种基于工具变量即 SNP 推断暴露与结局因果关系的一种流行病学统计方法。MR 分析基于 3 个重要假设[11]。首先，相关性假设即作为工具变量的遗传变异与暴露因素高度相关；其次，独立性假设指选择的遗传变异不能与混杂因素相关联；第三，排除限定假设指暴露因素是遗传变异影响结局的唯一途径。本研究是基于大规模全基因组关联研究（genome-wide association studies，GWAS）公共数据库中的汇总遗传数据进行的，因此不需要额外的伦理审批。本文研究设计及撰写基于孟德尔随机化研究的报告规范《STROBE-MR》[12]，MR 研究总体方案如图 1 所示。

1.2 数据来源

本研究中胃食管反流病 GWAS 数据从一项包含 385 276 个个体（其中病例 80 265 例，非病例 305 011 例）的 GWAS 研究[13]中获得，GWAS 数据 ID 为“GERD_UKBB_QSKIN.gwas”。该研究是来自英国生物样本库、QSkin 研究及 23andMe 数据库的 5 个 GWAS 数据集的荟萃分析研究，具有较大的样本量。COPD GWAS 数据来自芬兰开展的大型基因组研究 FinnGen 数据库[14]（https://www.finngen.fi/en），GWAS 数据 ID 为“finngen_R9_J10_COPD”。FinnGen 数据库是规模最大的基因组研究项目之一，旨在通过基因研究改善人类健康，并最终确定多种疾病的新治疗靶点和诊断方法。该研究共 329 552 例参与者，其中包括 18 266 例 COPD 患者和 311 286 例对照者。研究人群之间不存在样本重叠，且均为欧洲人群，避免了种族差异造成的偏倚。文中所用 GWAS 数据的详

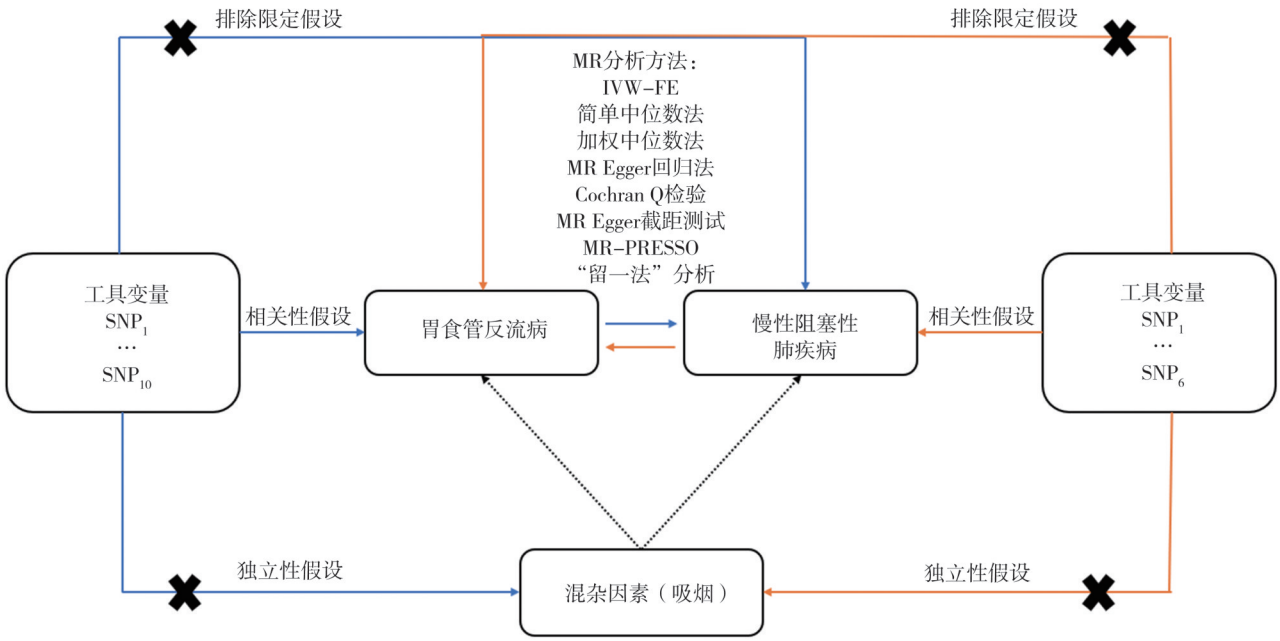


图1　MR研究总体方案

细信息见表1。

表1　本研究中GWAS数据的详细信息

暴露/结局	GWAS ID	种族来源	病例组	对照组	样本量	公布年份	PubMed ID	数据来源网址
胃食管反流病	GERD_UKBB_QSKIN.gwas	欧洲	80 265	305 011	385 276	2019	31 527 586	https://doi.org/10.6084/m9.figshare.8986589
慢性阻塞性肺疾病	finngen_R9_J10_COPD	欧洲	18 266	311 286	329 552	2023	–	https://www.finngen.fi/en

1.3　工具变量筛选

当以胃食管反流病为暴露因素时，首先选择与胃食管反流病强相关且全基因组显著水平为$P<5\times10^{-8}$、不存在连锁不平衡（$r^2<0.001$）的SNP[15]。之后使用PhenoScanner V2（www.phenoscanner.medschl.cam.ac.uk/）[16]检查所使用的工具变量是否与潜在混杂因素吸烟相关，若发现与吸烟相关（$P<5\times10^{-8}$）的SNP则剔除。当以COPD为暴露因素进行反向MR分析时，为了获得更多有效工具变量，放宽全基因组显著阈值（$P<5\times10^{-7}$）[17]，之后剔除存在连锁不平衡（$r^2>0.001$）即与混杂因素吸烟相关（$P<5\times10^{-8}$）的SNP。最后得到与胃食管反流病或COPD强相关的有效SNP作为工具变量。

1.4　分析方法

1.4.1　MR分析　采用逆方差加权法固定效应模型（inverse variance weighted-fixed effects，IVW-FE）作为主要的MR分析方法。在不存在基因多效性即选择作为工具变量的SNP不能通过除暴露外的任何途径影响结果的情况下，IVW-FE是最有效的分析方法[10]。同时，采用简单中位数法、加权中位数法、MR Egger回归法进行结果验证和稳定性检验。简单中位数法要求至少50%的遗传变异为有效工具变量，而加权中位数法要求由遗传变异贡献的权重至少50%是有效的[18]。MR Egger回归法放宽了IVW方法中遗传变异之间不存在多效性的要求，它假设工具变量不或不完全通过暴露因素对结局产生影响[19]。

1.4.2　敏感性分析　①计算SNP的F统计量评估工具变量与暴露因素的关联强度，计算公式为$F=(beta/se)^2$，其中beta为等位基因效应值，se为标准误[20]。F值小于10表明可能存在弱工具变量偏倚[21]，将其剔除。②采用Cochran Q检验判断工具变量之间是否存在异质性，若$P>0.05$则提示存在异质性的可能性较小[22]。③采用MR Egger截距测试评估是否存在水平多效性，若截距项有统计学意义，则表明该研究存在明显的水平多效性[23]。④孟德尔随机多态性残差和离群值（Mendelian randomization pleiotropy residual sum and outlier，MR-PRESSO）用于检测是否存在离群值，若存在则剔除异常值后重新进行分析来检测和校正水平多效性[24]。⑤进行“留一法”敏感性分析，通过每次去除单个SNP来评估该遗传变异对整体因果效应的影响[10]。

1.5　统计学方法

所有统计学分析均通过R软件4.2.2版中的“TwoSampleMR”包进行。研究结果以比值比（odds ratio，OR）及95%置信区间（confidence interval，CI）呈现。检验水准$\alpha=0.05$。

2 结 果

2.1 胃食管反流病对COPD发病风险的影响

经过筛选并剔除与混杂因素吸烟相关的SNP（rs10242223，rs597808）后得到11个独立的SNP。计算*F*统计量，剔除*F*<10的弱工具变量（rs12706746），最终共有10个SNP纳入研究。SNP详细信息见表2。

IVW-FE表明与不患胃食管反流病人群相比，遗传学预测的患病人群发生COPD的风险增加了75.7%（*OR*=1.757，95%CI=1.425~2.166，*P*=0.000）。简单中位数法（*OR*=1.591，95%CI=1.188~2.132，*P*=0.002）、加权中位数法（*OR*=1.534，95%CI=1.129~2.084，*P*=0.006）同样显示胃食管反流病可增加患COPD的风险。然而，MR Egger回归法未显示出两者之间的因果关联（*OR*=4.282，95%CI=0.561~32.673，*P*=0.198）。

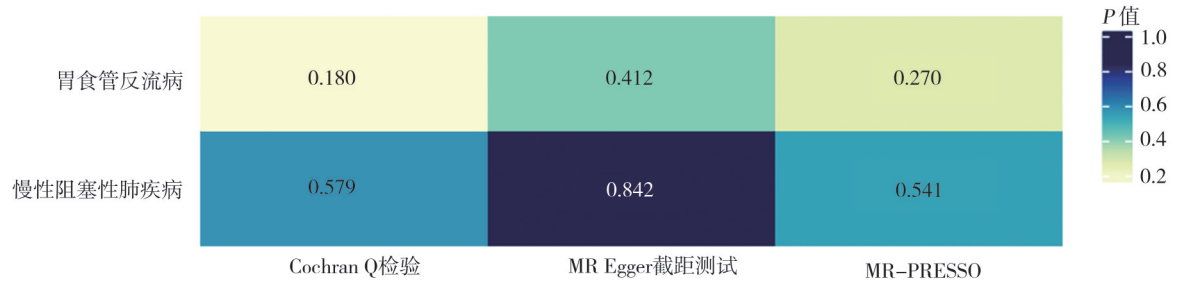
敏感性分析结果，如图2所示，Cochran *Q*检验显示SNP之间不存在异质性（*Q*=12.624，*P*=0.180）；MR Egger截距测试（*P*=0.412）表明此研究不存在水平多效性；进行MR-PRESSO未检测到显著的离群值（*P*=0.270），MR结果稳健。此外，“留一法”分析逐个去除SNP，未观察到单个SNP对整体结果有较大影响，见图3。散点图结果显示所选取的工具变量具有稳定性，且4种方法的斜率均为正，SNP对胃食管反流病的效应越强，则SNP对COPD的效应也越强，表明胃食管反流病与COPD之间存在正相关关系，见图4。

2.2 COPD对胃食管反流病发病风险的影响

经过筛选，共纳入6个SNP作为工具变量进行MR分析，且未发现与混杂因素吸烟相关。*F*统计量均大于10，有效避免了弱工具变量偏倚的影响，详见表3。

表2 最终筛选出的胃食管反流病的SNP信息

SNP	效应等位基因	非效应等位基因	效应等位基因频率	等位基因效应值	标准误	*F*值	*P*值
rs11171710	G	A	0.53	−0.030	0.005	36.000	1.800×10^{-8}
rs12792379	G	A	0.79	−0.041	0.005	67.240	3.910×10^{-8}
rs1937450	T	G	0.46	−0.030	0.005	36.000	1.630×10^{-8}
rs4721096	T	C	0.21	−0.041	0.011	13.893	2.240×10^{-8}
rs72771256	G	A	0.78	0.039	0.005	60.840	2.960×10^{-8}
rs74652506	C	T	0.86	−0.041	0.011	13.893	4.160×10^{-8}
rs7552188	T	C	0.22	0.039	0.005	60.840	3.760×10^{-10}
rs7609078	G	A	0.61	0.039	0.010	15.210	2.540×10^{-9}
rs7613875	C	A	0.47	−0.030	0.005	36.000	3.670×10^{-8}
rs809955	G	A	0.66	0.039	0.005	60.840	4.690×10^{-10}



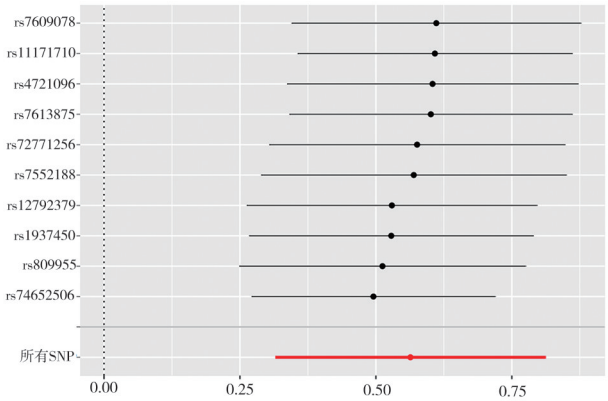
注：横坐标代表采用的敏感性分析方法，纵坐标代表暴露因素，每个区间块的数字代表敏感性分析结果的*P*值

图2 胃食管反流病与COPD孟德尔随机化研究的敏感性分析结果

表3 最终筛选出的COPD的SNP信息

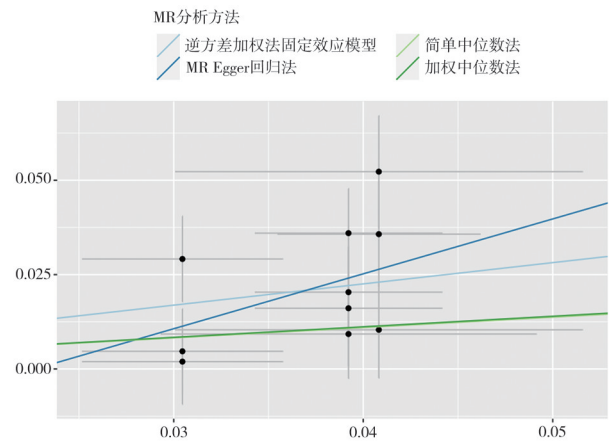
SNP	效应等位基因	非效应等位基因	效应等位基因频率	等位基因效应值	标准误	*F*值	*P*值
rs2818388	A	C	0.09	0.175	0.033	27.453	1.640×10^{-7}
rs28929474	T	C	0.02	0.440	0.070	40.135	2.400×10^{-10}
rs4762262	A	C	0.17	0.131	0.025	27.499	1.620×10^{-7}
rs192743950	A	G	0.05	−0.222	0.043	26.555	2.600×10^{-7}
rs113623975	G	A	0.10	−0.187	0.031	35.770	2.170×10^{-9}
rs8040868	C	T	0.38	0.210	0.019	120.425	5.840×10^{-28}

IVW-FE结果显示，COPD不是增加胃食管反流病发病风险的危险因素（*OR*=0.999，95%CI=0.962~1.037，*P*=0.962）。同样，简单中位数法（*OR*=0.998，95%CI=0.945~1.053，*P*=0.929）、加权中位数法（*OR*=1.020，95%CI=0.973~1.068，*P*=0.406）、MR Egger回归法（*OR*=0.985，95%CI=0.857~1.132，*P*=0.839）未发现二者存在因果关联。



注：横坐标为依次剔除单个SNP后胃食管反流病对COPD风险因果影响的MR效应估计值，纵坐标为胃食管反流病SNP

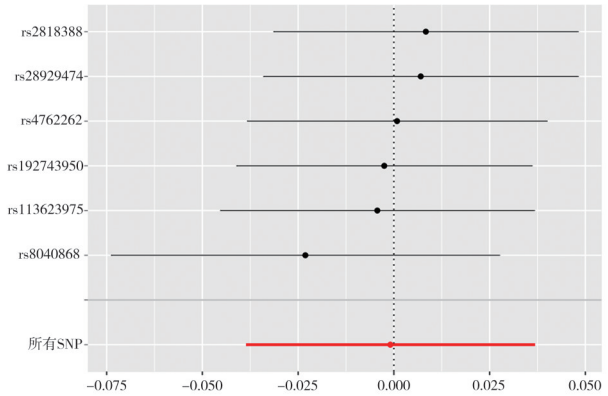
图3　胃食管反流病对慢性阻塞性肺疾病风险因果影响的“留一法”分析结果



注：横坐标表示工具变量对胃食管反流病的影响，纵坐标表示工具变量对慢性阻塞性肺疾病的影响

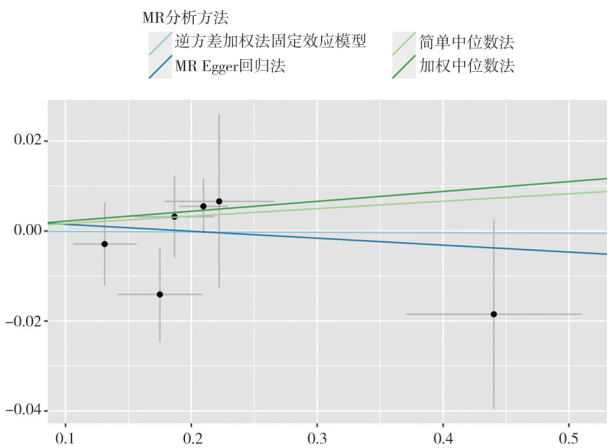
图4　胃食管反流病对COPD风险因果影响的散点图

敏感性分析结果，如图2所示，未发现SNP间存在异质性（Cochran *Q*检验，*Q*=3.798，*P*=0.579）；MR Egger截距测试未发现研究存在水平多效性（*P*=0.842）；MR-PRESSO未检测到异常SNP（*P*=0.541）。同时，进行“留一法”分析逐个剔除SNP后，MR分析结果稳健，见图5。散点图结果显示，与COPD和胃食管反流病密切相关的工具变量具有稳定性，但4种方法的斜率方向不一致，不能表明二者间具有相关关系，见图6。



注：横坐标为依次剔除单个SNP后COPD对胃食管反流病风险因果影响的MR效应估计值，纵坐标为COPD SNP

图5　COPD对胃食管反流病风险因果影响的“留一法”分析结果



注：横坐标表示工具变量对COPD的影响，纵坐标表示工具变量对胃食管反流病的影响

图6　COPD对胃食管反流病风险因果影响的散点图

3　讨　论

本研究采用双向两样本孟德尔随机化方法，从基因层面证明胃食管反流病可增加患COPD的风险。但反之，未发现COPD与胃食管反流病之间存在因果关联的证据。

之前关于胃食管反流病与COPD的关系推断主要来自观察性研究。既往1项综述研究表明在COPD患者中，胃食管反流病的患病率存在较大差异，从19%至78%不等（平均42.8%），但高于对照组患病率18.5%[8]。一项全国性的队列研究显示，与无COPD的对照人群相比，COPD患者发生胃食管反流病的风险升高（*HR*=2.10，95%CI=1.76-2.49，*P*<0.001）[6]。最近对12项研究的系统评价同样发现

COPD病人胃食管反流的发生率较高，尤其是男性、有吸烟史、西方地区的病人[25]。然而，观察到的胃食管反流病与COPD的关联可能受到吸烟的影响。一方面，吸烟是导致COPD患病的主要原因，与不吸烟者相比，吸烟者出现呼吸系统症状及肺功能异常的比例更高[26]；另一方面，烟草中含有的尼古丁可诱导食管括约肌肌肉松弛、张力降低，导致酸暴露及反流的频率增加，吸烟已被发现是胃食管反流病的危险因素[27]。同时由于传统观察性研究无法区分正向和反向因果关系（即胃食管反流病和COPD发生的时间顺序），限制了对二者因果关系的深入理解。本研究使用孟德尔随机化的方法克服了混杂因素吸烟及反向因果的影响从遗传学的角度评估胃食管反流病与COPD之间的因果关系。

本研究发现与不患胃食管反流病人群相比，患病人群发生COPD的风险增加75.7%，但关于胃食管反流病导致COPD的具体机制尚不清楚，提出以下几种潜在机制。①胃食管反流是肺微误吸的危险因素[8]，反流物中的胃蛋白酶和微量吸入物破坏肺泡表面活性物质，导致肺萎陷以及死腔扩张，随之增加肺内分流，造成肺部不可逆气流受限。②胃内容物长期反流至支气管和肺组织，可能引起支气管和肺部组织发生慢性炎症反应，形成慢性支气管炎，进而发展为COPD[28]。③由于在胚胎时期食管、支气管具有共同的起源，因此具有相同的神经支配。远端食管反流物中的酸性物质使食管到支气管的迷走神经弧被激活，导致支气管收缩，同时介导促炎介质释放，加重气道炎症和高反应性[9]。此外，既往研究发现瞬时受体电位（transient receptor potential，TRP）通道的激活可以触发神经源性炎症，而TRP通道在肺平滑肌细胞、支气管上皮细胞、肺泡细胞中大量存在。这些通道可以被包括酸反流在内的各种刺激激活，并在气道炎症和高反应性中发挥重要作用[29]。因此，上述胃食管反流病导致COPD相关机制也进一步验证了本研究的发现。值得注意的是，有研究表明为了克服肺部过度充气增加的吸气负荷，COPD患者吸气时需要增加呼吸肌吸气力，导致胸部和腹部之间的压力梯度增加，从而影响食管下括约肌的张力使反流更有可能发生[30]。这与分析结果存在差异，原因可能是使用的COPD工具变量数目有限，且未纳入除欧洲人群外其他种族的GWAS数据，因此在更全、更新的GWAS数据中进一步研究是必要的。

本研究具有以下优势：①应用两样本双向MR方法来探索胃食管反流病与COPD的因果关系。与既往大量观察性研究相比，MR研究不受经典混杂因素（如吸烟）和反向因果的影响。②多种敏感性分析方法未发现基因异质性和水平多效性的证据，证实了结果的稳健性。③GWAS数据均未公开发表，提供了数千种人类性状的遗传变异，相对容易获取，节省时间和人力物力。

然而，本研究也具有一定的局限性。①所有GWAS数据均来自欧洲人群，限制了这些研究结果在其他人群中的临床推广性。②MR分析结果不能直接与来自临床研究的效应值进行比较，只能判断效应的方向并加强因果关系的推断。③不能避免未能观察到的工具变量的水平多效性。④本研究纳入的工具变量数目较少，未来需要在更多更大样本量的GWAS数据中进行更深入研究。

本研究通过两样本双向孟德尔随机化方法，从基因层面表明胃食管反流病与COPD的风险增加有显著的因果关系，反之没有发现COPD导致胃食管反流病风险增加的证据，但仍需在更大的GWAS数据中进行验证。在未来应关注胃食管反流病作为COPD潜在治疗靶点的可能性，并进一步研究其发生机制。

参 考 文 献

[1] Agustí A, Celli BR, Criner GJ, et al. Global initiative for chronic obstructive lung disease 2023 report: gold executive summary[J]. Eur Respir J, 2023, 61(4): 2300239.

[2] Christenson SA, Smith BM, Bafadhel M, et al. Chronic obstructive pulmonary disease[J]. Lancet, 2022, 399(10342): 2227-2242.

[3] Wu CT, Li GH, Huang CT, et al. Acute exacerbation of a chronic obstructive pulmonary disease prediction system using wearable device data, machine learning, and deep learning: development and cohort study[J]. JMIR Mhealth Uhealth, 2021, 9(5): e22591.

[4] Katz PO, Dunbar KB, Schnoll-Sussman FH, et al. ACG clinical guideline for the diagnosis and management of gastroesophageal reflux

disease[J]. Am J Gastroenterol, 2022, 117(1): 27-56.

[5] Chapelle N, Ben Ghezala I, Barkun A, et al. The pharmacotherapeutic management of gastroesophageal reflux disease (GERD)[J]. Expert Opin Pharmacother, 2021, 22(2): 219-227.

[6] Chiu YC, Chang WP, Tang GJ, et al. Chronic obstructive pulmonary disease is associated with a higher risk of functional gastrointestinal disorders[J]. Respir Med, 2022, 197: 106833.

[7] Zou ML, Zhang W, Xu Y, et al. Relationship between COPD and GERD: a bibliometrics analysis[J]. Int J Chron Obstruct Pulmon Dis, 2022, 17: 3045-3059.

[8] Broers C, Tack J, Pauwels A. Review article: gastro-oesophageal reflux disease in asthma and chronic obstructive pulmonary disease[J]. Aliment Pharmacol Ther, 2018, 47(2): 176-191.

[9] Griffiths TL, Nassar M, Soubani AO. Pulmonary manifestations of gastroesophageal reflux disease[J]. Expert Rev Respir Med, 2020, 14(8): 767-775.

[10] Reynolds CJ, Del Greco M F, Allen RJ, et al. The causal relationship between gastro-oesophageal reflux disease and idiopathic pulmonary fibrosis: a bidirectional two-sample Mendelian randomisation study[J]. Eur Respir J, 2023, 61(5): 2201585.

[11] Wang YZ, Shen HB. Challenges and factors that influencing causal inference and interpretation, based on Mendelian randomization studies[J]. Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi, 2020, 41(8): 1231-1236.

[12] Skrivankova VW, Richmond RC, Woolf BAR, et al. Strengthening the reporting of observational studies in epidemiology using Mendelian randomization: the STROBE-MR statement[J]. JAMA, 2021, 326(16): 1614-1621.

[13] An JY, Gharahkhani P, Law MH, et al. Gastroesophageal reflux GWAS identifies risk loci that also associate with subsequent severe esophageal diseases[J]. Nat Commun, 2019, 10(1): 4219.

[14] Kurki MI, Karjalainen J, Palta P, et al. FinnGen provides genetic insights from a well-phenotyped isolated population[J]. Nature, 2023, 613(7944): 508-518.

[15] Yuan S, Larsson SC. Adiposity, diabetes, lifestyle factors and risk of gastroesophageal reflux disease: a Mendelian randomization study[J]. Eur J Epidemiol, 2022, 37(7): 747-754.

[16] Kamat MA, Blackshaw JA, Young R, et al. PhenoScanner V2: an expanded tool for searching human genotype-phenotype associations[J]. Bioinformatics, 2019, 35(22): 4851-4853.

[17] Zonneveld MH, Trompet S, Jukema JW, et al. Exploring the possible causal effects of cardiac blood biomarkers in dementia and cognitive performance: a Mendelian randomization study[J]. Geroscience, 2023, 45(6): 3165-3174.

[18] Bowden J, Davey Smith G, Haycock PC, 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] Burgess S, Thompson SG. Interpreting findings from Mendelian randomization using the MR-Egger method[J]. Eur J Epidemiol, 2017, 32(5): 377-389.

[20] de Klerk JA, Beulens JWJ, Mei HL, et al. Altered blood gene expression in the obesity-related type 2 diabetes cluster may be causally involved in lipid metabolism: a Mendelian randomisation study[J]. Diabetologia, 2023, 66(6): 1057-1070.

[21] Carter AR, Sanderson E, Hammerton G, et al. Mendelian randomisation for mediation analysis: current methods and challenges for implementation[J]. Eur J Epidemiol, 2021, 36(5): 465-478.

[22] Greco M FD, Minelli C, Sheehan NA, et al. Detecting pleiotropy in Mendelian randomisation studies with summary data and a continuous outcome[J]. Stat Med, 2015, 34(21): 2926-2940.

[23] Bowden J, Davey Smith 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.

[24] Verbanck M, Chen CY, Neale B, et al. Detection of widespread horizontal pleiotropy in causal relationships inferred from Mendelian randomization between complex traits and diseases[J]. Nat Genet, 2018, 50(5): 693-698.

[25] 唐 欢,陈贵华,李 琴,等.慢性阻塞性肺疾病病人胃食管反流发生率的系统评价[J].循证护理,2022,8(19):2557-2563.

Tang H, Chen GH, Li Q, et al. Systematic review of the incidence of gastroesophageal reflux in patients with chronic obstructive pulmonary disease[J]. Chin Evid Based Nurs, 2022, 8(19): 2557-2563.

[26] Fu YS, Kang N, Yu YP, et al. Polyphenols, flavonoids and inflammasomes: the role of cigarette smoke in COPD[J]. Eur Respir Rev, 2022, 31(164): 220028.

[27] Larsson SC, Burgess S. Appraising the causal role of smoking in multiple diseases: a systematic review and meta-analysis of Mendelian randomization studies[J]. EBioMedicine, 2022, 82: 104154.

[28] Morehead RS. Gastro-oesophageal reflux disease and non-asthma lung disease[J]. Eur Respir Rev, 2009, 18(114): 233-243.

[29] Müller I, Alt P, Rajan S, et al. Transient receptor potential (TRP) channels in airway toxicity and disease: an update[J]. Cells, 2022, 11(18): 2907.

[30] Wang XL, Wright Z, Wang JY, et al. Elucidating the link: chronic obstructive pulmonary disease and the complex interplay of gastroesophageal reflux disease and reflux-related complications[J]. Medicina, 2023, 59(7): 1270.

（责任编辑：周一青）