生物信息学 DOI：10.13406/j.cnki.cyxb.003564

两样本孟德尔随机化分析哮喘与慢性阻塞性肺疾病的因果关系

李雅兰[1]，张 炜[2]，孙仕奇[2]，姜林鸿[3]，陈 凤[1]
（1.上海中医药大学曙光临床医学院，上海 201203；2.上海中医药大学附属曙光医院肺病科，上海 201203；
3.上海中医药大学康复医学院，上海 201203）

【摘 要】目的：采用两样本孟德尔随机化（mendelian randomization，MR）方法探究哮喘和慢性阻塞性肺疾病（chronic obstructive pulmonary disease，COPD）间是否存在因果关系。**方法：**从全基因组关联研究（genome-wide association studies，GWAS）汇总数据中筛选出与哮喘强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（inverse variance weighted，IVW）作为主要分析方法，MR-Egger法、加权中位数法、简单模型和加权模型作为辅助分析方法，以评价哮喘和COPD发病风险之间的因果关系，同时采用孟德尔随机多态性残差和离群值（mendelian randomization pleiotropy residual sum and outlier，MR-PRESSO）检验检测是否存在离群的SNP，MR-Egger截距测试、Cochran Q检验评估工具变量的水平多效性和异质性。**结果：**共纳入61个SNP，IVW结果显示，哮喘是COPD的危险因素（*OR*=1.146，95%CI=1.023-1.283，*P*=0.020；*OR*=1.153，95%CI=1.003~1.326，*P*=0.045），其余4种辅助分析方法的结果与IVW方法显示的结果一致，MR-PRESSO检验、Cochran Q检验、MR-Egger截距测试以及留一法的结果均显示了结果的稳定性。**结论：**哮喘是COPD的危险因素。

【关键词】哮喘；慢性阻塞性肺疾病；孟德尔随机化；全基因组关联研究
【中图分类号】R563 **【文献标志码】**A **【收稿日期】**2024-01-01

The causal relationship between asthma and chronic obstructive pulmonary disease based on a two-sample Mendelian randomization analysis

Li Yalan[1], Zhang Wei[2], Sun Shiqi[2], Jiang Linhong[3], Chen Feng[1]
(1. Shuguang Clinical Medical College, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine; 2. Department of Pulmonary Diseases, Shuguang Hospital Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine; 3. School of Rehabilitation Science, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine)

【Abstract】*Objective*: To investigate whether there is a causal relationship between asthma and chronic obstructive pulmonary disease (COPD) using the two-sample Mendelian randomization (MR) approach. ***Methods*:** Single nucleotide polymorphisms (SNPs) strongly associated with asthma were obtained as instrumental variables (IVs) from the pooled data of genome-wide association studies, and the inverse variance weighted (IVW) method was used as the main analytical method, assisted by the methods of MR-Egger, weighted median, simple model, and weighted model, to evaluate the causal relationship between asthma and the risk of COPD. At the same time, the MR-PRESSO test was used to detect whether there was an outlier SNP, and the MR-Egger intercept test and the Cochran Q test were used to evaluate the horizontal pleiotropy and heterogeneity of IVs. ***Results*:** A total of 61 SNPs were included, and IVW results showed that asthma is a risk factor for COPD. (odds ratio [*OR*]=1.146, 95%CI=1.023-1.283, *P*=0.020; *OR*=1.153, 95% CI=1.003-1.326, *P*=0.045), and the results of the other four auxiliary analysis methods were consistent with the results of IVW. The results of the MR-PRESSO test, the Cochran Q test, the MR-Egger intercept test, and the leave-one-out method all showed the stability of the above results. ***Conclusion*:** Asthma may increase the risk of COPD.

【Key words】asthma; chronic obstructive pulmonary disease; Mendelian randomization; genome-wide association studies

作者介绍：李雅兰，Email：l15093339299@163.com，研究方向：中西医结合防治呼吸系统疾病。
通信作者：张 炜，Email：zhangw1190a@sina.com。
基金项目：上海市市级科技重大专项资助项目（编号：ZXS004R4-2）；上海市中医呼吸专科联盟资助项目[编号：ZY（2021-2023）-0302]；上海中医内科临床重点实验室资助项目（编号：20DZ2272200）。
优先出版：https://link.cnki.net/urlid/50.1046.R.20240819.0907.024（2024-08-19）

慢性阻塞性肺疾病（chronic obstructive pulmonary disease，COPD）是一种对全球健康构成重大威胁的慢性呼吸系统疾病，以其特征性的持续性气流阻塞为标志。全球疾病负担研究显示，2017 年慢性呼吸系统疾病已成为世界上第三大死因，而 COPD 则是慢性呼吸道疾病的主要致死因素。中国 40 岁以上成年人 COPD 患病率高达 13.7%，这一高患病率和死亡率给社会带来了巨大的公共卫生负担[1-2]。

COPD 通常被认为与吸烟、环境污染暴露等外在因素，以及肺部异常发育、遗传等内在因素有关，同时还受到抑郁症、肥胖等疾病的影响[3-4]。此外，COPD 在临床表现方面主要表现为肺功能下降和喘息等症状，这些特点与哮喘存在很多相似之处，因此很难区分这 2 种疾病。实际上，COPD 和哮喘可以同时存在，形成哮喘和慢性阻塞性肺疾病重叠（asthma-chronic obstructive pulmonary disease overlap，ACO）。1 项韩国队列研究发现，在严重哮喘患者中，出现 ACO 的概率高达 12.5%，ACO 患者肺功能更差，急性加重更频繁[5]。这一发现不仅揭示了哮喘和 COPD 之间可能存在某种关联，还提示了减少二者合并出现的重要性。既往较多的研究集中在探讨儿童哮喘与 COPD 发生发展的潜在关系上[6-8]。当然，也有部分研究发现具有哮喘病史的成人在晚年患 COPD 的可能性增加[9-10]。因此，进一步明确二者之间的因果关系，有助于为 COPD 及合并症患者提供更科学的临床管理方案。

孟德尔随机化（mendelian randomization，MR）是一种新兴的临床研究方法，其与随机对照试验（randomized controlled trial，RCT）有着相似的研究设计和目的，利用与暴露、结局相关的遗传变异数据作为工具变量，通过遗传变异的随机分配来实现随机化处理，最终达到估算暴露因素和结局之间因果关系的目的[11]。另外，MR 研究克服了 RCT 研究耗时耗力的问题，不涉及伦理规范，同时，相较于观察性研究，这种获得因果关系的方法能够更好地控制混杂因素，具有更高的可靠性。因此，本课题组选取哮喘和 COPD 样本，进行 MR 分析，以明确哮喘是否对 COPD 的发病风险产生因果效应。

1 资料与方法

1.1 研究设计

这项 MR 研究的设计思路见图 1。该方法基于 3 个核心假设：工具变量与暴露变量强相关；工具变量与混杂因素无关；工具变量不能直接影响结局，只能通过暴露变量与结局发生关联[12]。

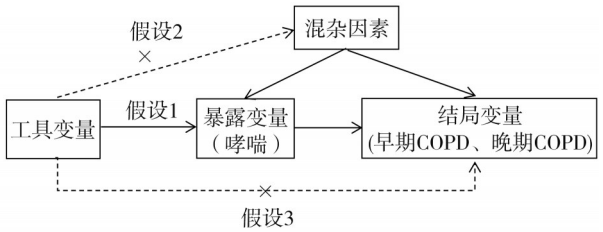


图 1 两样本 MR 设计思路

1.2 数据来源

哮喘和 COPD 的遗传工具变量分别来源于 EBI 数据库和 FinnGen 数据库，二者皆可通过 https://gwas.mrcieu.ac.uk/ 获取，其中研究对象均为欧洲人。具体而言，暴露变量为哮喘，总样本量为 408 422 例，其中包括 56 167 例哮喘患者和 352 255 例对照。结局变量为 COPD，主要选取早期 COPD（患者发病年龄<65 岁）和晚期 COPD（患者发病年龄≥65 岁）2 个表型，其中早期 COPD 的病例组为 3 508 例，对照组为 212 197 例；晚期 COPD 的病例组为 3 087 例，对照组为 212 197 例，见表 1。

1.3 工具变量的选择

在工具变量的筛选过程中，首先按照 $P<0.001$ 的标准筛选，然后通过去除连锁不平衡（遗传距离=10 000 kb、$r^2<0.001$）筛选出 80 个单核苷酸多态性（single nucleotide polymorphism，SNP）。接下来，使用 PhenoScanner 数据库（http://www.phenoscanner.medschl.cam.ac.uk/）剔除与混杂因素相关的 SNP。最后为了保证所选的 SNP 与 COPD 发生风险具有强相关性，并避免弱工具变量产生偏倚，本课题组以 F 统计量[$F=R^2\times(N-2)/(1-R^2)$]>10 为不存在弱工具变量偏倚。

1.4 孟德尔随机化分析

采用 R4.2.3 中的“TwoSampleMR”包进行统计分析。在这项研究中，用逆方差加权法（inverse variance weighted，IVW）、MR-Egger、加权中位数法、简单模型和加权模型用于双样本孟德尔随机化分析，以评估哮喘与 COPD 的因果关系，其中以 IVW 方法的结果作为主要参考。另外，本课题组应用 Cochran Q 检验评估工具变量的异质性，MR-Egger 截距评估水平多效性，孟德尔随机多态性残差和离群值（mende-

表 1 本研究中 GWAS 数据信息

暴露与结局	GWAS ID	数据库	病例组	对照组	SNP	人口
哮喘	ebi-a-GCST90014325	EBI	56 167	352 255	34 551 291	
早期 COPD	finn-b-COPD_EARLY	Finngen	3 508	212 197	16 380 458	欧洲人
晚期 COPD	finn-b-COPD_LATER	Finngen	3 087	212 197	16 380 461	

lian randomization pleiotropy residual sum and outlier，MR-PRESSO）检验评估是否存在潜在的离群值，最后，通过留一法通过每次去除单个SNP来评估该遗传变异对整体因果效应的影响。

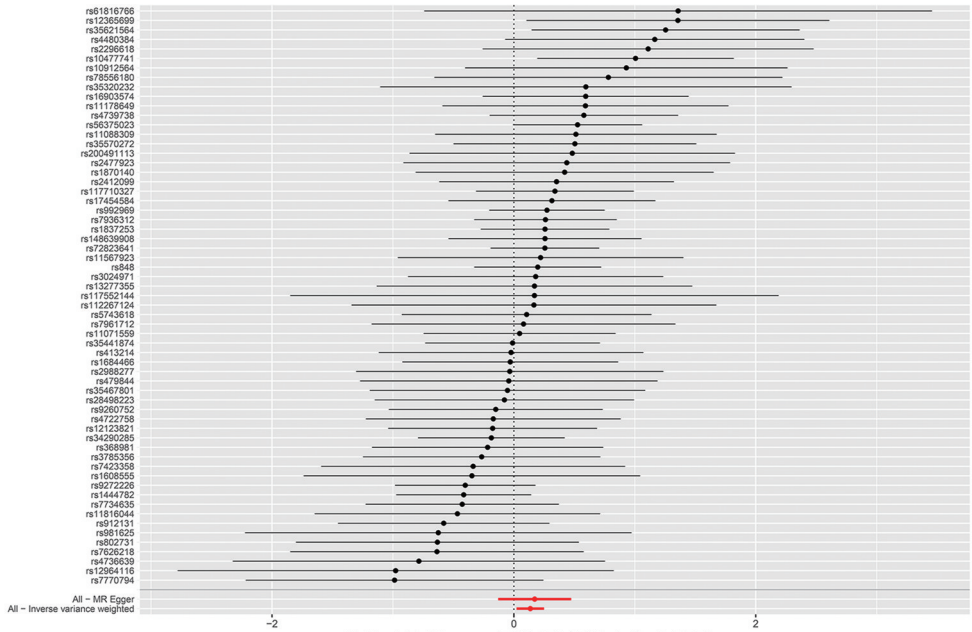
2　结　果

2.1　工具变量

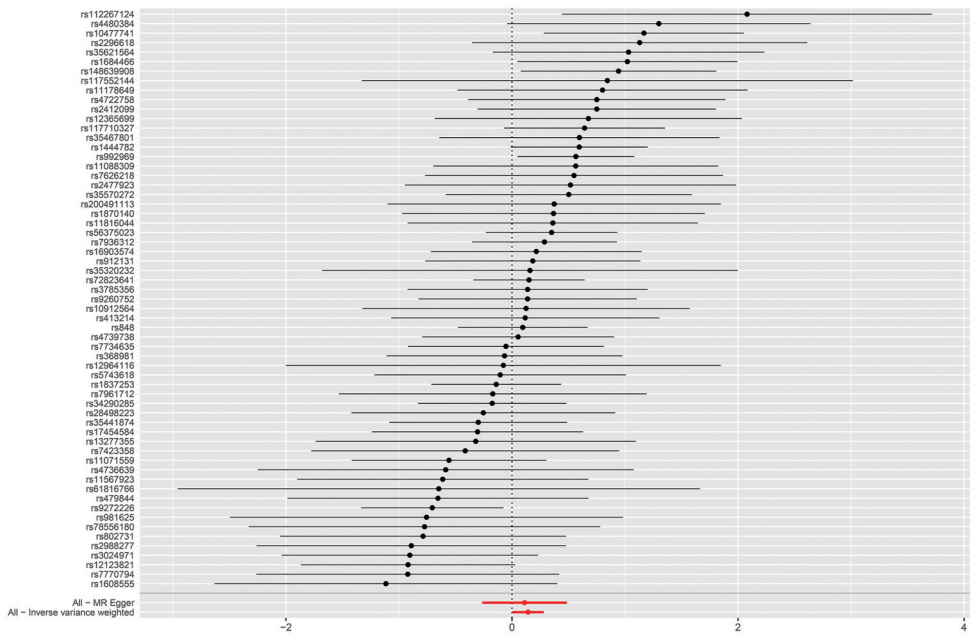
本课题组根据条件筛选（P<0.001，r^2<0.001，遗传距离=10 000 kb）并剔除与混杂因素相关的SNP后，筛选出与哮喘相关的工具变量共61个，具体SNP信息见图2。所有工具变量的F统计值都大于10，这表明研究结果不受弱工具变量偏倚的影响。

2.2　孟德尔随机化分析结果

IVW结果提示，哮喘会增加COPD的发病风险（OR=1.146，95%CI=1.023~1.283，P=0.020；OR=1.153，95%CI=1.003~1.326，P=0.045），此外，加权中位数法也得到了同样的结果（OR=1.246，95%CI=1.051~1.467，P=0.011）。MR-Egger回归、简单模型和加权模型3种回归模型P>0.05，差异无统计学意义，但它们的β值与IVW结果β值符号方向一致，提示5种方法所得的因果效应方向一致，从而支持了哮喘与COPD之间的因果关系。具体见表2、3、图3。



A. 哮喘对早期COPD风险因素影响的森林图



B. 哮喘对晚期COPD 风险因果影响的森林图

图2　两样本MR分析结果森林图

表2　哮喘与早期COPD的MR分析结果

方法	β	SE	P	OR(95%CI)
MR Egger	0.172	0.154	0.268	1.188(0.878~1.605)
Weighted median	0.220	0.087	0.011	1.246(1.051~1.476)
IVW	0.136	0.058	0.019	1.146(1.023~1.283)
Simple mode	0.168	0.184	0.365	1.183(0.825~1.698)
Weighted mode	0.238	0.139	0.092	1.268(0.966~1.666)

注：暴露变量为哮喘；结局变量为早期COPD

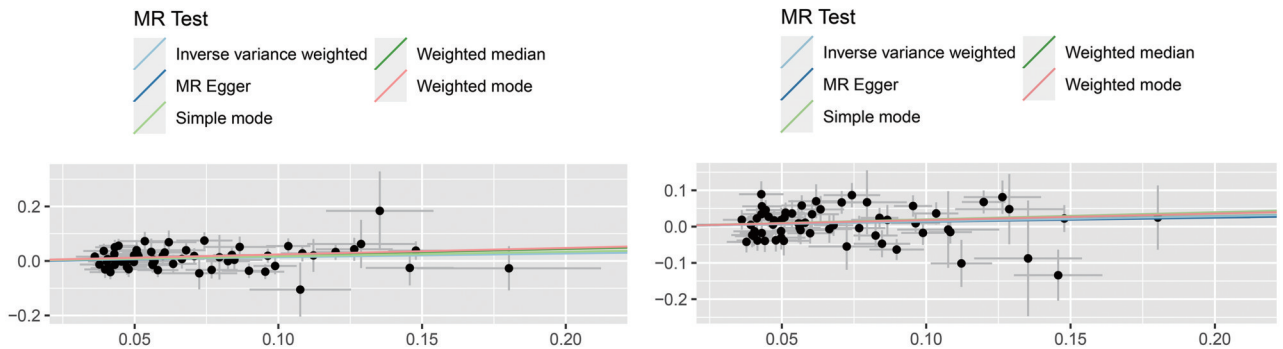
表3　哮喘与晚期COPD的MR分析结果

方法	β	SE	P	OR(95%CI)
MR Egger	0.112	0.191	0.560	1.119(0.769~1.627)
Weighted median	0.146	0.100	0.144	1.157(0.952~1.406)
IVW	0.143	0.071	0.045	1.153(1.003~1.326)
Simple mode	0.197	0.244	0.422	1.218(0.755~1.967)
Weighted mode	0.179	0.171	0.301	1.196(0.855~1.673)

注：暴露变量为哮喘；结局变量为晚期COPD

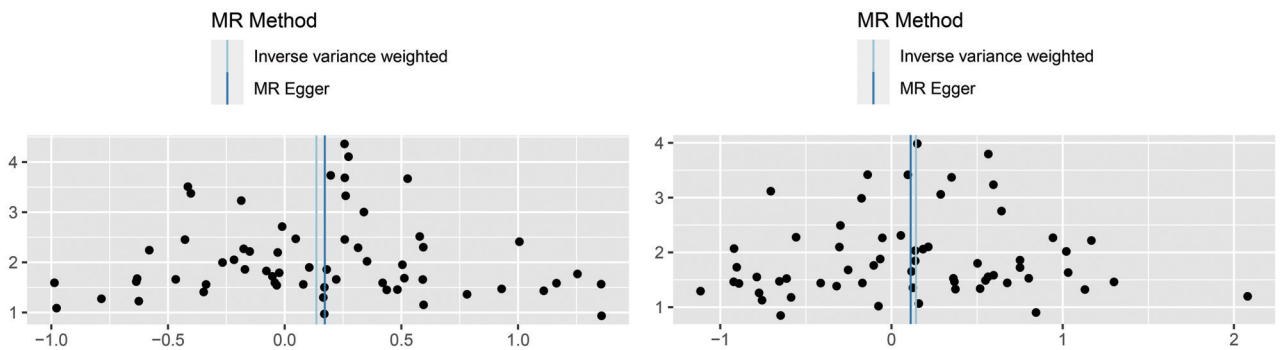
2.3　敏感性分析

使用Cochran's Q检验以检测异质性，结果显示，IVW（P=0.598，P=0.067）和MR-Egger回归（P=0.564、P=0.057），工具变量间无明显异质性（P>0.05）。MR-Egger截距分别为-0.003，0.002（P>0.05），表明工具变量不存在水平多效性。MR-PRESSO结果进一步确保了IVs中无异常SNP（P>0.05）。漏斗图基本对称，表明SNP不存在异质性。采用Leave-one-out法分析单个SNP对整体结果的影响，逐一去除SNP后，结果无明显变化。以上表明结果具有显著的可靠性。具体见图4、图5。



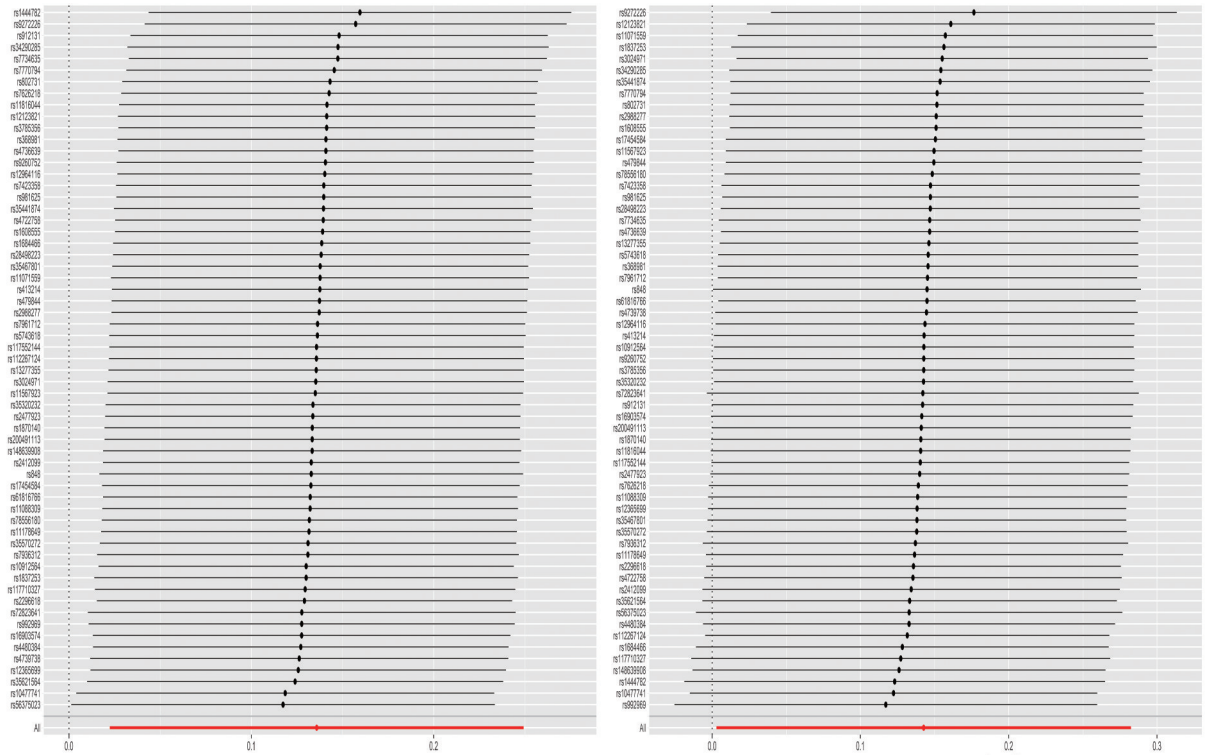
A. 哮喘对早期COPD风险因果影响的散点图　　B. 哮喘对晚期COPD风险因果影响的散点图

图3　两样本MR分析结果散点图



A. 哮喘对早期COPD风险因果影响的漏斗图　　B. 哮喘对晚期COPD风险因果影响的漏斗图

图4　两样本MR分析结果漏斗图



A. 哮喘对早期COPD风险因果影响的“留一法”图　　B. 哮喘对晚期COPD风险因果影响的“留一法”图

图5　留一法敏感性分析结果

3　讨　论

目前，针对哮喘和COPD关系的研究较多集中在ACO的诊断与治疗上，而ACO的出现是否涉及二者相互转化。另外，二者是否互相影响。本课题组从这些问题出发，利用2样本MR方法研究了哮喘和COPD之间的因果关系。通过GWAS数据中的SNP作为工具变量，采用IVW进行主要分析，从遗传学的角度表明哮喘是COPD的危险因素。但在COPD对哮喘影响的反向MR研究中，未筛选到有意义的SNP，因此不能双向评估COPD和哮喘之间的因果关系。

小气道的表面积远远大于大气道，通常来说小气道对总气道阻力贡献小，被称为“沉默区”。近年来，小气道被认为是哮喘和COPD气流阻塞的主要部位[13]。早期COPD患者往往仅有小气道的阻塞，临床症状不明显，此时呼吸功能的改变不能被肺功能仪检测到，而从小气道阻塞缓慢发展到第1秒用力呼气量（forced expiratory volume in the first second，FEV1）下降阶段往往需要数十年[14]。这为儿童哮喘可能会增加成年早期COPD的发生风险提供了支持[15]。因为哮喘本身会造成小气道发生炎症、充血水肿、平滑肌痉挛等病变，但是因为哮喘患儿引起的小气道病变，可能往往需要几十年才能影响到大气道，表现出COPD的体征[16]。同样地，在研究中发现，哮喘与早期COPD的发生风险呈正相关。COPD的晚期阶段通常是疾病最严重的时候，除了小气道阻塞，大气道的病变和肺部组织的显著破坏可能导致患者呼吸困难等症状明显加重[17]。而哮喘或许通过气道炎症和结构改变等机制影响晚期COPD的发展[18]。本研究也证实了，哮喘和晚期COPD之间存在因果关联。

然而目前哮喘促进COPD发生发展的具体机制仍不清楚，可能涉及气道炎症和气道重塑。哮喘是一种反复发作性疾病，气道高反应性和气道炎症常持续存在于患者体内，控制不佳的哮喘会伴随炎症反应的过度发生，出现气道黏液高分泌、气道痉挛等系列病理变化，导致气道重构，进行性地从可逆性气流阻塞发展到气道的永久性阻塞，而不可逆的气流阻塞是COPD的重要特点[19-20]。此外，免疫系统在哮喘和COPD的发病和发展中同样发挥着关键作用。既往研究发现，在哮喘中，上皮细胞间的紧密连接的破坏、上皮细胞脱落以及病原体的更深穿透，可触发免疫细胞反应的持续发生[21]。这些免疫反应可能导致气道炎症的持续存在和气道收缩，为COPD的进展创造了环境。多项研究表明，自身免疫在COPD的发生发展中发挥着重要作用[22]。Bu T

等[23]研究发现，先天性免疫细胞可调节气道炎症、细菌定植以及气道重塑，从而在COPD进展期间导致进行性气流阻塞。不仅如此，有研究表明，肺部的CD8+ T细胞产生的促炎介质可能会促进稳定型COPD的发生发展[18,24]。总的来说，持续的气道炎症和免疫细胞的异常活动可能是哮喘促进COPD发生发展的重要机制之一，进一步深入研究将有助于更好地理解这2种肺部疾病之间的关联，从而为未来的预防和治疗提供更多科学依据。

这项研究与先前观察性研究结果一致，但其使用公开GWAS数据，节约了时间和经济成本，减少了哮喘通过作用于混杂因素造成COPD发生的可能性，结果可靠性和稳定性更强。然而，尽管本研究在疾病因果关系的探讨上取得了重要进展，但仍然存在一些局限性。首先，纳入对象为欧洲人群，推断的因果关系可能不适用于其他种族群体；再者，本研究采用的GWAS数据缺乏哮喘表型等具体信息，无法进行亚组分析；最后，生物学机制的探讨无法在这项研究中实现。

综合而言，本MR设计为哮喘是COPD的危险因素提供了证据支持。然而，哮喘通过何种机制增加COPD发病风险的问题仍需要更深入地探索。期望未来研究聚焦在深入理解这些机制的基础上，提出新的治疗和干预策略，以防止或减缓肺功能恶化。

参 考 文 献

[1] Collaborators GCRD. Prevalence and attributable health burden of chronic respiratory diseases, 1990-2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017[J]. Lancet Respir Med, 2020, 8(6): 585-596.

[2] Wang C, Xu JY, Yang L, et al. Prevalence and risk factors of chronic obstructive pulmonary disease in China (the China Pulmonary Health[CPH]study): a national cross-sectional study[J]. Lancet, 2018, 391(10131): 1706-1717.

[3] Larsson SC, Burgess S. Causal role of high body mass index in multiple chronic diseases: a systematic review and meta-analysis of Mendelian randomization studies[J]. BMC Med, 2021, 19(1): 320.

[4] Cheng XX, Shi J, Zhang D, et al. Assessing the genetic relationship between gastroesophageal reflux disease and chronic respiratory diseases: a Mendelian randomization study[J]. BMC Pulm Med, 2023, 23(1): 243.

[5] Joo H, Park SY, Park SY, et al. Phenotype of asthma-COPD overlap in COPD and severe asthma cohorts[J]. J Korean Med Sci, 2022, 37(30): e236.

[6] Shirtcliffe P, Marsh S, Travers J, et al. Childhood asthma and GOLD-defined chronic obstructive pulmonary disease[J]. Intern Med J, 2012, 42(1): 83-88.

[7] Hayden LP, Hobbs BD, Cohen RT, et al. Childhood pneumonia increases risk for chronic obstructive pulmonary disease: the COPDGene study[J]. Respir Res, 2015, 16(1): 115.

[8] Deolmi M, Decarolis NM, Motta M, et al. Early origins of chronic obstructive pulmonary disease: prenatal and early life risk factors[J]. Int J Environ Res Public Health, 2023, 20(3): 2294.

[9] Asamoah-Boaheng M, Acheampong L, Tenkorang EY, et al. Association between early history of asthma and COPD diagnosis in later life: a systematic review and meta-analysis[J]. Int J Epidemiol, 2018, 47(6): 1865-1876.

[10] Asamoah-Boaheng M, Farrell J, Bonsu KO, et al. Association between medication adherence and risk of COPD in adult asthma patients: a retrospective cohort study in Canada[J]. Clin Epidemiol, 2022, 14: 1241-1254.

[11] Davey Smith G, Hemani G. Mendelian randomization: genetic anchors for causal inference in epidemiological studies[J]. Hum Mol Genet, 2014, 23(R1): 89-98.

[12] VanderWeele TJ, Tchetgen Tchetgen EJ, Cornelis M, et al. Methodological challenges in Mendelian randomization[J]. Epidemiology, 2014, 25(3): 427-435.

[13] Braido F, Scichilone N, Lavorini F, et al. Manifesto on small airway involvement and management in asthma and chronic obstructive pulmonary disease: an Interasma (Global Asthma Association-GAA) and World Allergy Organization (WAO) document endorsed by Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma (*ARIA*) and Global Allergy and Asthma European Network (GA^{2}LEN)[J]. World Allergy Organ J, 2016, 9(1): 37.

[14] Hogg JC, Chu F, Utokaparch S, et al. The nature of small-airway obstruction in chronic obstructive pulmonary disease[J]. N Engl J Med, 2004, 350(26): 2645-2653.

[15] Ali KM. Childhood asthma as a risk factor for adult chronic obstructive pulmonary disease: a systematic review and meta-analysis[J]. Expert Rev Respir Med, 2020: 1-7.

[16] Yang WC, Li FY, Li C, et al. Focus on early COPD: definition and early lung development[J]. Int J Chron Obstruct Pulmon Dis, 2021, 16: 3217-3228.

[17] Weingaertner V, Scheve C, Gerdes V, et al. Breathlessness, functional status, distress, and palliative care needs over time in patients with advanced chronic obstructive pulmonary disease or lung cancer: a cohort study[J]. J Pain Symptom Manage, 2014, 48(4): 569-581.

[18] Barnes PJ. Cellular and molecular mechanisms of asthma and COPD[J]. Clin Sci, 2017, 131(13): 1541-1558.

[19] Banno A, Reddy AT, Lakshmi SP, et al. Bidirectional interaction of airway epithelial remodeling and inflammation in asthma[J]. Clin Sci, 2020, 134(9): 1063-1079.

[20] Guo P, Li R, Piao TH, et al. Pathological mechanism and targeted drugs of COPD[J]. Int J Chron Obstruct Pulmon Dis, 2022, 17: 1565-1575.

[21] Raby KL, Michaeloudes C, Tonkin J, et al. Mechanisms of airway epithelial injury and abnormal repair in asthma and COPD[J]. Front Immunol, 2023, 14: 1201658.

[22] Caramori G, Ruggeri P, Di Stefano A, et al. Autoimmunity and COPD: clinical implications[J]. Chest, 2018, 153(6): 1424-1431.

[23] Bu T, Wang LF, Yin YQ. How do innate immune cells contribute to airway remodeling in COPD progression?[J]. Int J Chron Obstruct Pulmon Dis, 2020, 15: 107-116.

[24] Caramori G, Casolari P, Barczyk A, et al. COPD immunopathology[J]. Semin Immunopathol, 2016, 38(4): 497-515.

（责任编辑：曾 玲）