糖尿病微血管并发症与肝纤维化因果关系的孟德尔随机化研究

程名，张婷，万雄飞（华润武钢总医院 药学部，湖北 武汉 430080）

摘要：目的 采用孟德尔随机化方法分析糖尿病微血管并发症（糖尿病视网膜病变、糖尿病肾病、糖尿病神经病变）与肝纤维化间的因果关联。**方法** 从 IEU Open GWAS 项目数据库（https://gwas.mrcieu.ac.uk/）在线获取肝纤维化（包括肝硬化）、糖尿病视网膜病变、糖尿病神经病变和糖尿病肾病相关数据集。按照以下标准筛选工具变量：①全基因组显著性阈值为 $P < 5\times10^{-6}$；②kb = 10 000、$r^2 < 0.001$；③F 检验统计量 ≥ 10；④非回文单核苷酸多态性（single nucleotide polymorphism，SNP）序列。以逆方差加权法（inverse variance weighting，IVW）作为估计因果效应的主要方法。采用 MR-Egger 法、加权中位数法、简单模式法和加权模式法为效应方向一致性的参考。通过 Cochran's Q 检验在 IVW 与 MR-Egger 框架下评估工具变量的异质性，采用 MR-Egger 截距检验评估定向水平多效性，使用留一法进行敏感性分析。使用 SNP 数据库和 DAVID 数据库将与糖尿病视网膜病变和糖尿病神经病变相关的 SNP 定位到各自基因，对相关基因进行基因本体论（gene ontology，GO）富集分析和京都基因与基因组百科全书（Kyoto encyclopedia of genes and genomes，KEGG）通路富集分析。**结果** 孟德尔随机化分析的IVW结果显示，糖尿病视网膜病变（$OR = 1.10$，95%CI：1.01～1.20，$P = 0.0328$）和糖尿病神经病变（$OR = 1.22$，95%CI：1.01～1.48，$P = 0.0400$）对肝纤维化有显著的因果效应，糖尿病肾病对肝纤维化未见显著因果效应（$OR = 1.24$，95%CI：0.99～1.55，$P = 0.0572$）。反向孟德尔随机化分析表明，肝纤维化与糖尿病视网膜病变（$OR = 1.04$，95%CI：0.97～1.11，$P = 0.3164$）、糖尿病肾病（$OR = 1.01$，95%CI：0.96～1.08，$P = 0.6426$）、糖尿病神经病变（$OR = 1.01$，95%CI：0.94～1.09，$P = 0.6924$）间不存在因果关联。**结论** 糖尿病视网膜病变和糖尿病神经病变与肝纤维化存在正向因果关联。

关键词：糖尿病视网膜病变；糖尿病肾病；糖尿病神经病变；肝纤维化；孟德尔随机化

Causal relationship between diabetic microvascular complications and liver fibrosis: a Mendelian randomization study

Cheng Ming, Zhang Ting, Wan Xiongfei *(Department of Pharmacy, China Resources & WISCO General Hospital, Hubei Wuhan 430080, China)*

Abstract: Objective To analyze the causal relationship between diabetic microvascular complications (diabetic retinopathy, diabetic nephropathy, diabetic neuropathy) and liver fibrosis by Mendelian randomization study. **Methods** The summary data for liver fibrosis (including cirrhosis), diabetic retinopathy, diabetic nephropathy and diabetic neuropathy were obtained from the IEU OpenGWAS Project database (https://gwas.mrcieu.ac.uk/). Instrumental variables for the Mendelian randomization analysis were selected according to the following criteria: ①a genome-wide significance threshold of $P < 5\times10^{-6}$; ②linkage

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7380.2026.03.007
基金项目：武汉市中医药科研项目（WZ24Z23）；湖北陈孝平科技发展基金会青年科学专项基金（CXPJJH125001-2526）
通信作者：万雄飞 Email: 282296011@qq.com

disequilibrium clumping with a window size of 10 000 kb and $r^2 < 0.001$; ③$F \geqslant 10$; ④exclusion of palindromic single nucleotide polymorphisms (SNP). Inverse variance weighting (IVW) was used as the primary method for causal effect estimation, with MR-Egger, weighted median, simple mode and weighted mode as complementary methods. Sensitivity analysis was performed using Cochran's *Q* test for heterogeneity assessment under both the IVW and MR-Egger frameworks, MR-Egger intercept test was used for horizontal pleiotropy assessment, and the leave-one-out method was used for sensitivity analysis. SNP associated with diabetic retinopathy and diabetic neuropathy were mapped to their respective genes using the SNP database, and Gene Ontology (GO) and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) enrichment analysis were performed using the DAVID database. **Results** The IVW results revealed significant causal effects of diabetic retinopathy (*OR* = 1.10, 95%*CI*: 1.01～1.20, *P* = 0.0328) and diabetic neuropathy (*OR* = 1.22, 95%*CI*: 1.01～1.48, *P* = 0.0400) on liver fibrosis, whereas no significant causal effect of diabetic nephropathy on liver fibrosis was identified (*OR* = 1.24, 95%*CI*: 0.99～1.55, *P* = 0.0572). Reverse Mendelian randomization analysis showed no significant causal association between liver fibrosis and diabetic retinopathy (*OR* = 1.04, 95%*CI*: 0.97～1.11, *P* = 0.3164), diabetic nephropathy (*OR* = 1.01, 95%*CI*: 0.96～1.08, *P* = 0.6426) or diabetic neuropathy (*OR* = 1.01, 95%*CI*: 0.94～1.09, *P* = 0.6924). **Conclusion** Diabetic retinopathy and diabetic neuropathy were causally associated with liver fibrosis.

Keywords: Diabetic retinopathy; Diabetic nephropathy; Diabetic neuropathy; Liver fibrosis; Mendelian randomization

全球每年约有200万人死于肝病，其中100万人死于肝硬化并发症，目前肝硬化是全球第11大常见死因[1]。肝纤维化是指肝脏细胞外基质的弥漫性过度沉积和异常分布，是肝脏对慢性损伤的病理性修复反应，也是慢性肝病进展为肝硬化的关键步骤。糖尿病是一组代谢性疾病，与多种器官（包括眼、肾脏、神经系统、心脏和血管）的长期损害和功能障碍有关[2]。糖尿病的微血管并发症显著影响患者预后。糖尿病视网膜病变是糖尿病的主要眼部并发症之一，30%～40%的糖尿病患者会出现糖尿病视网膜病变[3]，在发达国家已成为劳动年龄人群视力损害及失明的重要原因[4]。糖尿病神经病变是一种常见的周围神经退行性疾病，随着糖尿病病程进展，超过50%的患者可能罹患该病[5, 6]。糖尿病肾病可显著增加患者的死亡率[7]，2021年全球成年糖尿病患者达5.37亿，其中约40%会进展为糖尿病肾病[8]。

肝纤维化可损伤肝脏的代谢功能，糖尿病患者通常已经存在血糖和血脂水平异常，肝纤维化可加剧糖脂代谢的紊乱。高血糖和高血脂是糖尿病微血管并发症发生和发展的重要危险因素。研究表明，1型糖尿病和2型糖尿病的微血管并发症与肝纤维化相关[9-11]，然而肝纤维化与糖尿病微血管并发症间的因果关系尚未明确。孟德尔随机化是一种基于基因变异的因果推断方法，可无偏地评估暴露因素对结局的因果效应，多用于流行病学病因推断[12, 13]。孟德尔随机化研究应满足3个核心假设[14]：①工具变量应与暴露因素显著相关；②工具变量不与任何混杂因素相关；③工具变量只通过暴露因素影响结局。本研究采用双向两样本孟德尔随机化分析，探究糖尿病微血管并发症（糖尿病视网膜病变、糖尿病肾病和糖尿病神经病变）与肝纤维化间的因果关系。

1 资料与方法

1.1 研究对象　为避免不同遗传背景人群的异质性导致的偏倚，本研究采用全基因组关联研究（genome-wide association studies，GWAS）。从IEU Open GWAS项目数据库（https://gwas.mrcieu.ac.uk/）在线获取肝纤维化（包括肝硬化）、糖尿病视网膜病变、糖尿病神经病变和糖尿病肾病相关数据集。所有GWAS汇总数据的摘要信息见表1。

1.2 孟德尔随机化分析　本研究采用双向两样本孟德尔随机化设计，整体分析流程见图1。

1.2.1 工具变量筛选　基于暴露因素GWAS汇总数据，按照孟德尔随机化的3个核心假设筛选独立且强相关的单核苷酸多态性（single nucleotide

表 1　两样本孟德尔随机化中 GWAS 数据特征

GWAS 数据集编号	年份（年）	表征	病例组（例）	对照组（例）	总样本量（例）	SNP（个）	研究人群
finn-b-K11_FIBROCHIRLIV	2021	肝纤维化和肝硬化	811	213 592	214 403	16 380 458	欧洲人群
finn-b-H7_RETINOPATHYDIAB	2021	糖尿病视网膜病变	3 646	203 018	206 664	16 380 430	欧洲人群
finn-b-DM_NEUROPATHY	2021	糖尿病神经病变	1 415	162 201	163 616	16 380 195	欧洲人群
finn-b-DM_NEPHROPATHY	2021	糖尿病肾病	3 283	210 463	213 746	16 380 453	欧洲人群

注：GWAS 为全基因组关联研究，SNP 为单核苷酸多态性。

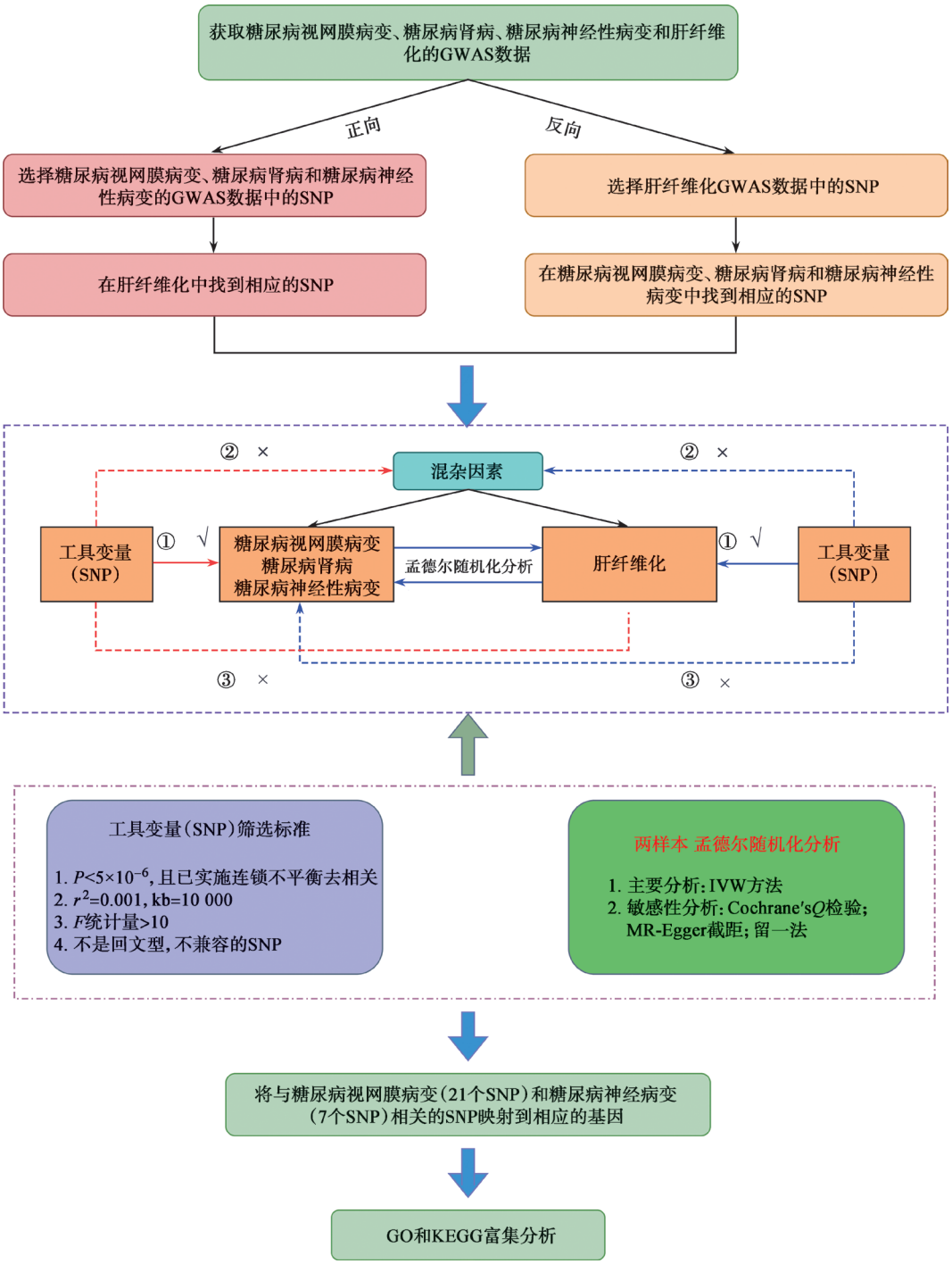


图 1　研究流程图

注：GWAS 为全基因组关联研究；SNP 为单核苷酸多态性；IVW 为逆方差加权法；GO 为基因本体论；KEGG 为京都基因与基因组百科全书；孟德尔随机化的三大核心假设：①工具变量与暴露因素显著相关，②工具变量不与任何混杂因素相关，③工具变量仅通过暴露因素影响结局。

polymorphism，SNP）作为工具变量。参考相关文献[15, 16]，设置全基因组显著性阈值为$P < 5 \times 10^{-6}$以获得强SNP，满足孟德尔随机化研究的第1个假设。为确保SNP相互独立，使用clump_data方法，参考相关文献[17, 18]，按照kb = 10 000、$r^2 < 0.001$（kb表示基因组窗口大小，r^2表示2个SNP间的相关程度）的标准去除存在连锁不平衡（linkage disequilibrium，LD）的工具变量，以满足第2个和第3个假设。为每个SNP计算F值，剔除$F < 10$的弱工具变量[19]。SNP的F统计量使用以下公式计算：$F = (N-2) \times R^2/(1-R^2)$，$R^2 = 2 \times EAF \times (1-EAF) \times \beta^2$，其中$N$为样本量，$EAF$为效应等位基因频率，$\beta$为等位基因的效应值，$EAF$和$\beta$可从GWAS汇总统计数据中获得。通过回文序列检测剔除回文SNP。

1.2.2 因果效应评估　以逆方差加权法（inverse variance weighting，IVW）作为估计因果效应的主要方法。IVW法在假设所有工具变量均有效（不存在水平多效性）的前提下，对每个SNP的Wald比率（即SNP对结局与对暴露的效应值之比）按其方差倒数加权合并，从而获得最有效率的因果效应估计。本研究各分析工具变量均多于3个，IVW按软件默认采用乘法随机效应模型，其置信区间已计入SNP间异质性。作为补充，同时采用MR-Egger法、加权中位数法、简单模式法和加权模式法进行验证。使用R语言软件（v4.4.1）中的TwoSampleMR包（v0.6.5）进行孟德尔随机化计算。肝纤维化与糖尿病微血管并发症间的因果效应以*OR*值和95%*CI*表示。

1.2.3 敏感性分析　通过Cochran's Q检验在IVW与MR-Egger框架下评估工具变量的异质性，以$P > 0.05$为无显著异质性[20]。采用MR-Egger截距检验评估定向水平多效性，以MR-Egger截距$P < 0.05$为存在定向水平多效性。使用留一法进行敏感性分析，通过逐步剔除每个SNP来评估其余SNP的可靠性。

1.3 基因定位和富集分析　使用SNP数据库（https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/）和DAVID数据库（https://davidbioinformatics.nih.gov/）将21个与糖尿病视网膜病变相关的SNP及7个与糖尿病神经病变相关的SNP定位到各自基因（其中分别有11个和6个成功定位到具体基因，其余SNP可能位于基因间区或未注释区域）。对定位基因进行基因本体论（Gene Ontology，GO）富集分析和京都基因与基因组百科全书（Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes，KEGG）通路富集分析（http://www.bioinformatics.com.cn/）。

2 结果

2.1 工具变量筛选结果　共筛选出41个与糖尿病微血管并发症相关的SNP作为工具变量，均未发现与肝纤维化有显著关联。其中，21个SNP与糖尿病视网膜病变强相关，13个SNP与糖尿病肾病强相关，7个SNP与糖尿病神经病变强相关。在反向孟德尔分析中，15个SNP与肝纤维化强相关，但与糖尿病微血管并发症无相关性。本研究纳入SNP的F值均＞10，所有筛选工具变量的详细参数见表2。

2.2 糖尿病微血管并发症对肝纤维化因果关系的正向孟德尔随机化分析　IVW分析表明，糖尿病视网膜病变与肝纤维化存在潜在的因果效应（*OR* = 1.10，95%*CI*：1.01～1.20，$P = 0.0328$），尽管其他4种方法未显示出统计学意义，但其因果效应的方向（除简单模式法外）与IVW一致；散点图结果也显示出除简单模式法外的其他3种方法因果效应方向的一致性。糖尿病肾病对肝纤维化未见显著因果效应（*OR* = 1.24，95%*CI*：0.99～1.55，$P = 0.0572$），其他4种因果效应评估及散点图均显示出相同的因果效应方向。糖尿病神经病变对肝纤维化存在潜在的因果效应（*OR* = 1.22，95%*CI*：1.01～1.48，$P = 0.0400$），尽管其他4种方法未显示出统计学差异，但其因果效应的方向与IVW一致，散点图也显示相同的因果效应方向。见图2、图3。

2.3 糖尿病微血管并发症对肝纤维化因果关系的敏感性分析（正向）　多效性分析未发现显著的定向水平多效性证据，即其与肝纤维化风险间未发现独立于糖尿病微血管并发症（糖尿病视网膜病变、糖尿病肾病、糖尿病神经病变）的因果路径（P均＞0.05）。异质性分析中，糖尿病视网膜病变和肝纤维化相关研究结果无显著异质性（$P > 0.05$），糖尿病肾病、糖尿病神经病变和肝纤维化相关研究结果存在异质性（$P < 0.05$），见表3。留一法分析未发现对总体结果有显著影响的特定SNP，见图4。异质性可能来源于以下方面：①工具变量筛选采用了相对宽松的显著性阈值（$P < 5 \times 10^{-6}$），使入选SNP的暴露效应估计偏高且偏倚程度因SNP而异；②各SNP效应估计精度不同（部分SNP效应等位基因频率低、标准误大）；③SNP间微小的多效性差异。本研究IVW采用乘法随机效应模型，置信区间已计入SNP间异质性，且异质性显著的分析中

表 2 孟德尔随机化分析工具变量筛选参数

暴露因素	GWAS 数据集编号	样本量（例）	基因组位置（GRCh37）	标准误	染色体	β	P 值	SNP 位点	效应等位基因	非效应等位基因	EAF	R^2	F 值
糖尿病视网膜病变	finn-b-H7_RETINOPATHYDIAB	206 664	201629468	0.0289	chr1	−0.137	2.06×10^{-6}	rs12567811	T	G	0.260	7.21×10^{-3}	1.50×10^{3}
			158075448	0.0459	chr1	0.214	3.23×10^{-6}	rs74781198	T	C	0.084	7.00×10^{-3}	1.46×10^{3}
			114377568	0.0356	chr1	−0.347	1.71×10^{-22}	rs2476601	G	A	0.851	3.05×10^{-2}	6.50×10^{3}
			184080053	0.0789	chr2	0.378	1.69×10^{-6}	rs142627474	C	T	0.026	7.31×10^{-3}	1.52×10^{3}
			60540938	0.0267	chr2	−0.136	3.75×10^{-7}	rs925482	G	C	0.334	8.22×10^{-3}	1.71×10^{3}
			126750525	0.0649	chr4	0.297	4.65×10^{-6}	rs78650891	A	G	0.042	7.07×10^{-3}	1.47×10^{3}
			113528825	0.0699	chr5	0.322	4.23×10^{-6}	rs115305913	T	G	0.034	6.83×10^{-3}	1.42×10^{3}
			32190390	0.0282	chr6	0.482	1.77×10^{-65}	rs915894	G	T	0.319	1.01×10^{-1}	2.31×10^{4}
			31319007	0.0265	chr6	0.173	5.51×10^{-11}	rs4992477	T	C	0.587	1.46×10^{-2}	3.06×10^{3}
			33045530	0.0831	chr6	−0.404	1.20×10^{-6}	rs28449420	C	T	0.026	8.30×10^{-3}	1.73×10^{3}
			31472149	0.0279	chr6	0.268	6.17×10^{-22}	rs2534659	A	G	0.607	3.44×10^{-2}	7.36×10^{3}
			32681530	0.0400	chr6	1.209	1.00×10^{-200}	rs3957146	C	T	0.120	3.08×10^{-1}	9.21×10^{4}
			29849257	0.0822	chr6	0.599	3.06×10^{-13}	rs115380430	C	A	0.024	1.65×10^{-2}	3.48×10^{3}
			156362735	0.0256	chr7	−0.118	4.42×10^{-6}	rs849095	A	G	0.417	6.71×10^{-3}	1.40×10^{3}
			2182224	0.0325	chr11	0.326	1.36×10^{-23}	rs689	T	A	0.791	3.51×10^{-2}	7.51×10^{3}
			30869941	0.0255	chr13	0.123	1.42×10^{-6}	rs7337261	C	T	0.572	7.41×10^{-3}	1.54×10^{3}
			85626196	0.0288	chr16	−0.133	3.77×10^{-6}	rs12598732	A	G	0.740	6.83×10^{-3}	1.42×10^{3}
			57872449	0.0265	chr18	0.124	2.74×10^{-6}	rs8084515	T	A	0.336	6.90×10^{-3}	1.44×10^{3}
			51437776	0.0330	chr19	0.163	8.08×10^{-7}	rs6509507	A	G	0.177	7.74×10^{-3}	1.61×10^{3}
			45714294	0.0668	chr21	0.399	2.29×10^{-9}	rs74203920	T	C	0.037	1.14×10^{-2}	2.39×10^{3}
			34689958	0.0275	chr21	−0.129	2.69×10^{-6}	rs7279547	T	A	0.301	7.04×10^{-3}	1.46×10^{3}
糖尿病肾病	finn-b-DM_NEPHROPATHY	213 746	114377568	0.0357	chr1	−0.165	3.76×10^{-6}	rs2476601	G	A	0.852	6.88×10^{-3}	1.48×10^{3}
			171610448	0.0532	chr2	0.280	1.47×10^{-7}	rs79023873	C	T	0.065	9.47×10^{-3}	2.04×10^{3}
			29816198	0.0458	chr3	0.216	2.45×10^{-6}	rs34771920	T	A	0.089	7.55×10^{-3}	1.63×10^{3}
			31288856	0.0836	chr6	0.404	1.37×10^{-6}	rs72859860	G	A	0.025	7.80×10^{-3}	1.68×10^{3}
			32582612	0.0311	chr6	0.354	6.78×10^{-30}	rs3104414	A	G	0.443	6.17×10^{-2}	1.41×10^{4}
			32626475	0.0310	chr6	0.493	5.74×10^{-57}	rs9273368	A	G	0.278	9.74×10^{-2}	2.31×10^{4}
			26341314	0.0377	chr6	0.198	1.54×10^{-7}	rs11753487	C	T	0.135	9.15×10^{-3}	1.97×10^{3}
			145001253	0.0309	chr6	0.146	2.34×10^{-6}	rs7742705	A	G	0.221	7.34×10^{-3}	1.58×10^{3}
			887649	0.2196	chr7	1.003	4.88×10^{-6}	rs188280850	G	C	0.004	8.77×10^{-3}	1.89×10^{3}
			129240609	0.0875	chr9	0.413	2.41×10^{-6}	rs116904056	T	C	0.023	7.64×10^{-3}	1.65×10^{3}
			120647226	0.0284	chr11	0.133	3.06×10^{-6}	rs2852217	T	C	0.715	7.16×10^{-3}	1.54×10^{3}
			60481883	0.0398	chr13	0.190	1.73×10^{-6}	rs10507642	C	T	0.119	7.57×10^{-3}	1.63×10^{3}
			12308053	0.0936	chr16	0.433	3.73×10^{-6}	rs148794147	A	G	0.020	7.23×10^{-3}	1.56×10^{3}
糖尿病神经病变	finn-b-DM_NEUROPATHY	163 616	114377568	0.0559	chr1	−0.348	4.53×10^{-10}	rs2476601	G	A	0.853	3.04×10^{-2}	5.13×10^{3}
			31414327	0.0409	chr6	0.252	7.03×10^{-10}	rs2516466	G	T	0.440	3.14×10^{-2}	5.30×10^{3}
			32582577	0.0481	chr6	0.557	5.61×10^{-31}	rs3104415	C	A	0.441	1.53×10^{-1}	2.95×10^{4}
			32626302	0.0476	chr6	0.677	5.22×10^{-46}	rs9273364	G	T	0.274	1.83×10^{-1}	3.66×10^{4}
			34509575	0.0392	chr9	−0.195	6.41×10^{-7}	rs4879800	A	G	0.445	1.88×10^{-2}	3.14×10^{3}
			2165173	0.0480	chr11	−0.226	2.62×10^{-6}	rs11603378	G	T	0.218	1.74×10^{-2}	2.89×10^{3}
			23938350	0.0656	chr22	−0.300	4.78×10^{-6}	rs142992018	C	G	0.105	1.69×10^{-2}	2.81×10^{3}

续表

暴露因素	GWAS数据集编号	样本量（例）	基因组位置（GRCh37）	标准误	染色体	β	P值	SNP位点	效应等位基因	非效应等位基因	EAF	R^2	F值
肝纤维化	finn-b-K11_FIBROCHIRLIV	214 403	164408314	0.0931	chr2	0.443	1.92×10^{-6}	rs1882347	C	A	0.086	3.09×10^{-2}	6.83×10^{3}
			182504487	0.1027	chr2	0.493	1.56×10^{-6}	rs147485195	C	T	0.069	3.12×10^{-2}	6.91×10^{3}
			13570339	0.0862	chr4	0.394	4.94×10^{-6}	rs35952897	G	A	0.098	2.74×10^{-2}	6.03×10^{3}
			33443157	0.1212	chr4	0.568	2.79×10^{-6}	rs74855200	A	G	0.050	3.09×10^{-2}	6.83×10^{3}
			56941924	0.3358	chr5	1.928	9.31×10^{-9}	rs113918199	G	A	0.008	6.07×10^{-2}	1.39×10^{4}
			32653855	0.0891	chr6	0.548	7.55×10^{-10}	rs76384124	A	G	0.097	5.28×10^{-2}	1.20×10^{4}
			128591399	0.1093	chr8	−0.536	9.28×10^{-7}	rs7834688	C	T	0.940	3.25×10^{-2}	7.21×10^{3}
			9907314	0.4299	chr9	2.071	1.46×10^{-6}	rs186592445	T	G	0.005	4.33×10^{-2}	9.70×10^{3}
			8274699	0.0505	chr11	−0.250	8.03×10^{-7}	rs11041827	T	C	0.459	3.09×10^{-2}	6.84×10^{3}
			111300662	0.0593	chr12	−0.280	2.34×10^{-6}	rs35413295	A	C	0.243	2.88×10^{-2}	6.35×10^{3}
			48973671	0.1868	chr15	0.858	4.32×10^{-6}	rs75306398	C	A	0.022	3.11×10^{-2}	6.89×10^{3}
			9369007	0.1122	chr17	0.532	2.13×10^{-6}	rs117865572	A	G	0.057	3.04×10^{-2}	6.73×10^{3}
			44324855	0.0624	chr22	0.478	1.92×10^{-14}	rs3747207	A	G	0.226	7.97×10^{-2}	1.86×10^{4}
			43681256	0.0552	chr22	0.260	2.63×10^{-6}	rs17003592	G	C	0.296	2.81×10^{-2}	6.19×10^{3}
			81623348	0.0538	chr1	0.255	2.22×10^{-6}	rs11163201	C	T	0.321	2.83×10^{-2}	6.24×10^{3}

注：β为等位基因的效应值；GWAS为全基因组关联研究，SNP为单核苷酸多态性。

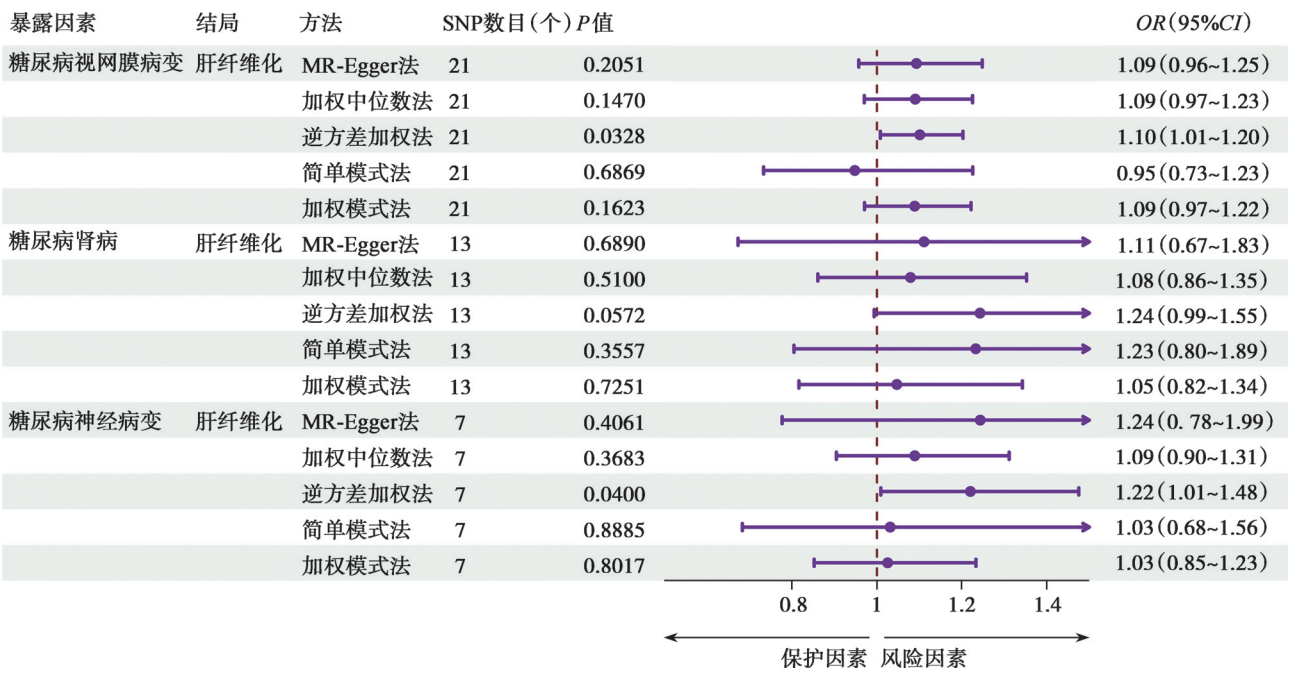


图2　糖尿病微血管并发症对肝纤维化因果关系的孟德尔随机化分析（正向）森林图

注：SNP为单核苷酸多态性。

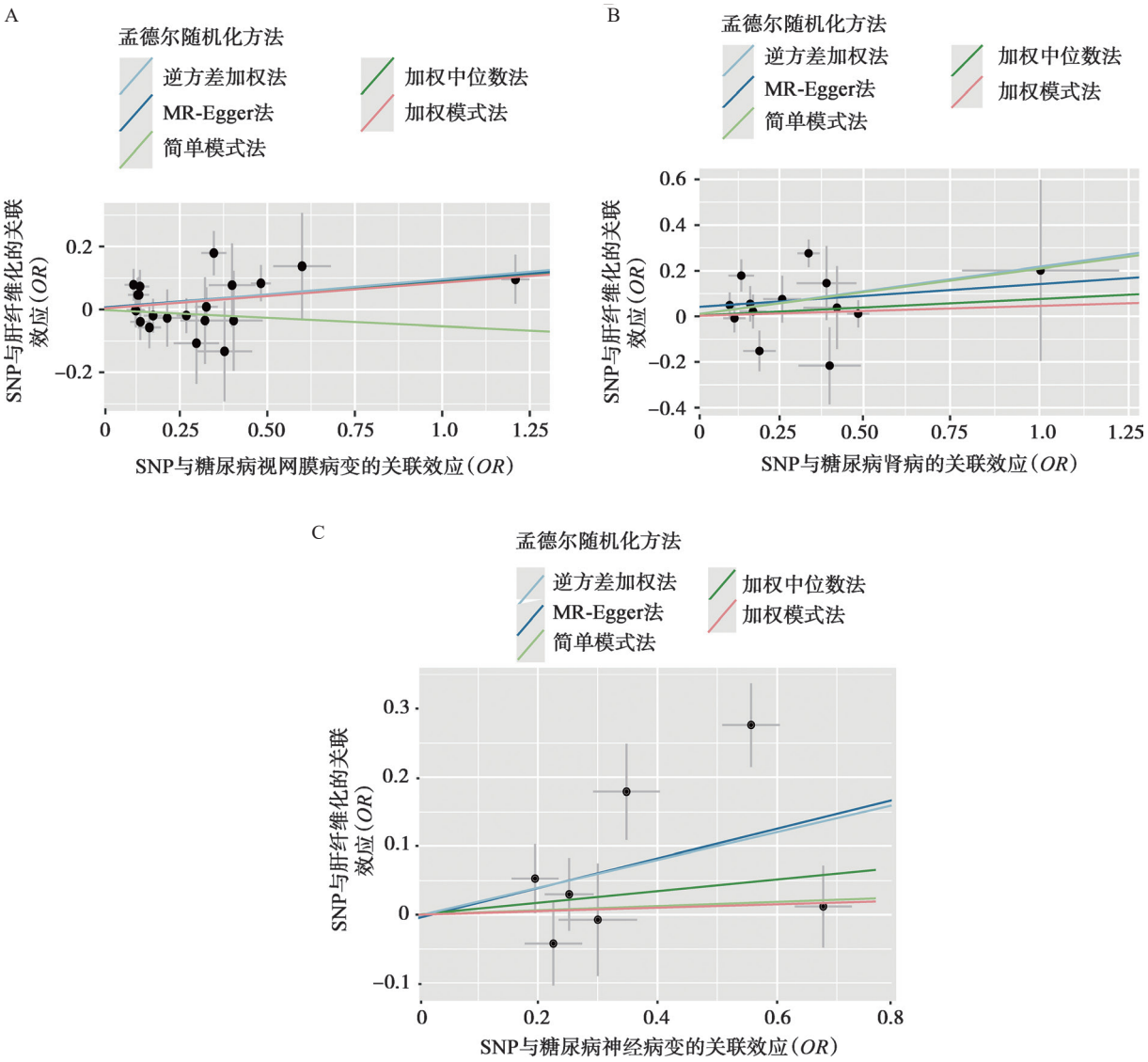


图 3　糖尿病微血管并发症对肝纤维化关系的孟德尔随机化分析（正向）因果关系散点图

注：A 为糖尿病视网膜病变，B 为糖尿病肾病，C 为糖尿病神经病变。

表 3　糖尿病微血管并发症对肝纤维化因果关系的敏感性分析（正向）

暴露因素	结局	水平多效性检验（MR-Egger）			异质性检验			
		截距	*SE*	*P* 值	IVW		MR-Egger	
					Q 值	*P* 值	*Q* 值	*P* 值
糖尿病视网膜病变	肝纤维化	0.0032	0.0220	0.8860	15.3283	0.7573	15.3072	0.7029
糖尿病肾病	肝纤维化	0.0365	0.0740	0.6315	26.5798	0.0089	26.0044	0.0065
糖尿病神经病变	肝纤维化	−0.0083	0.0951	0.9342	16.9901	0.0093	16.9645	0.0046

注：IVW 为逆方差加权法。

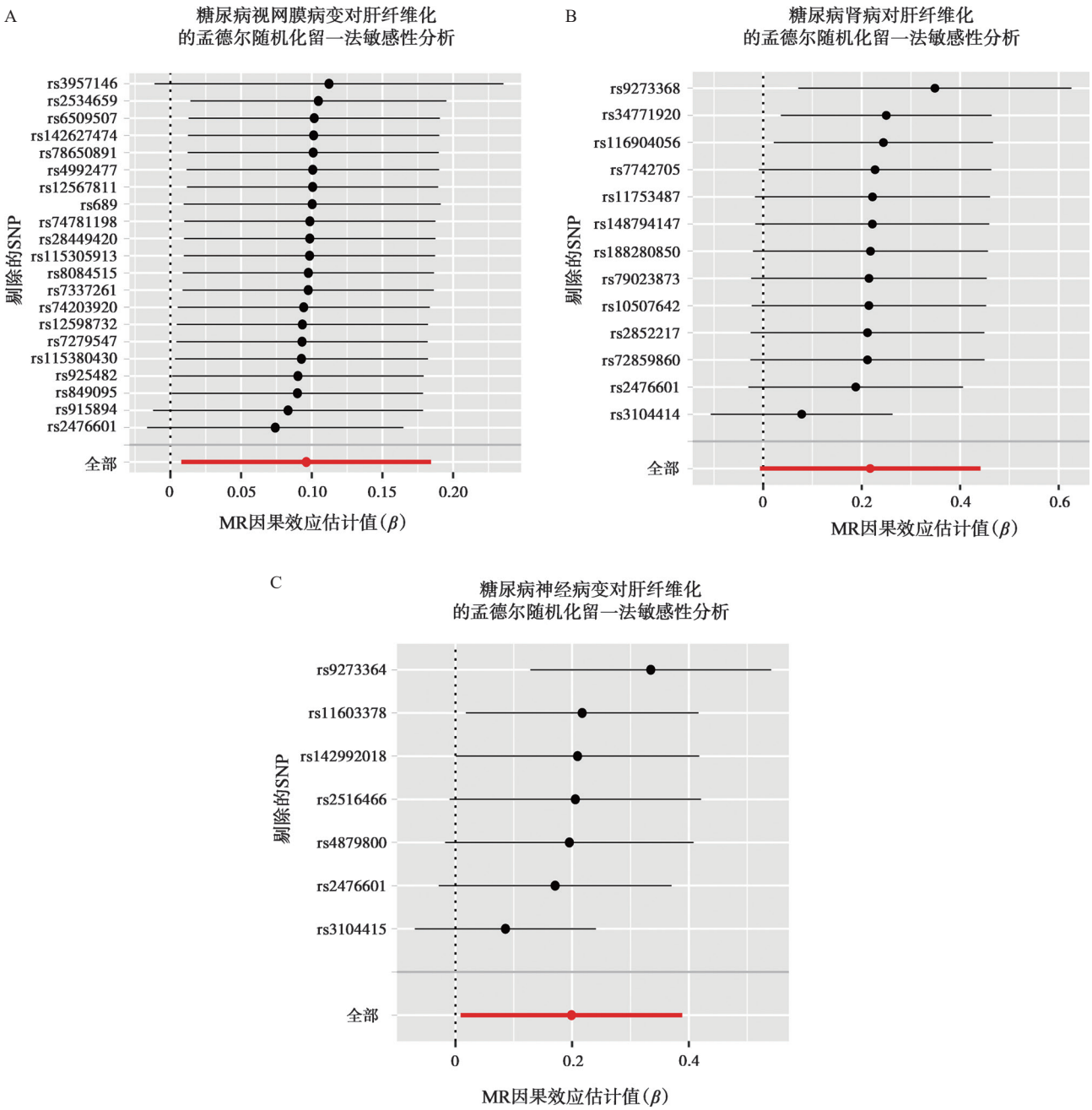


图 4　糖尿病微血管并发症对肝纤维化因果关系的孟德尔随机化（正向）敏感性分析留一法图

注：SNP 为单核苷酸多态性。

MR-Egger 截距检验均为阴性，提示异质性并非由定向多效性驱动；结合留一法与多种方法方向一致的结果，认为残留异质性不改变主要结论的方向。

2.4 肝纤维化对糖尿病微血管并发症因果关系的反向孟德尔随机化分析　IVW 结果显示，肝纤维化作为暴露因素时，与糖尿病微血管并发症间均未见因果效应关系（P 均 >0.05），其他 4 种方法结果相同，见图 5。

2.5 肝纤维化对糖尿病微血管并发症因果关系的敏感性分析（反向）　反向分析的异质性与多效性检验结果见表 4。肝纤维化与糖尿病视网膜病变的分析存在统计学异质性（$P<0.05$），但 MR-Egger 截距未见定向水平多效性证据（截距 $P=0.3266$），5 种方法的效应估计方向一致、量值接近；因 IVW 点估计（$OR=1.04$，95%CI：0.97～1.11）已接近无效值，异质性不足以影响结果判定。肝纤维化与糖尿病肾病、糖尿病神经病变的分析未见显著异质性（$P>0.05$），但 MR-Egger 截距检验提示存在定

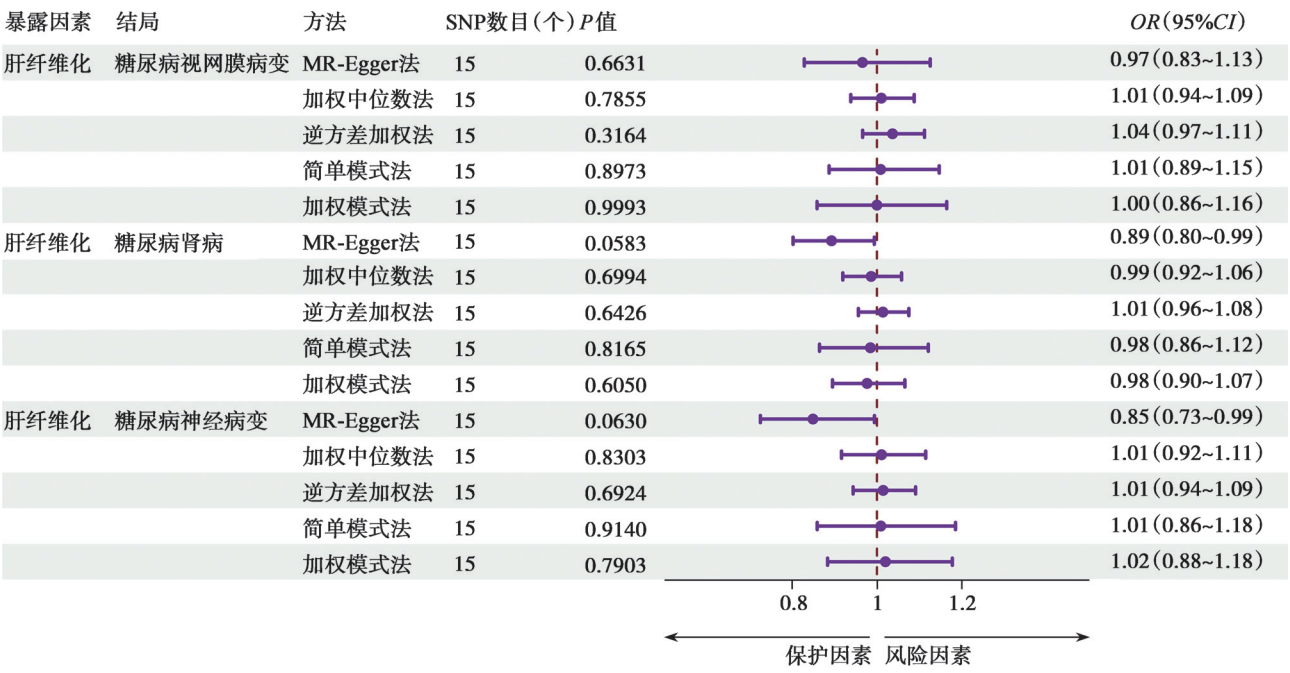


图 5　肝纤维化对糖尿病微血管并发症因果关系的孟德尔随机化分析（反向）森林图

注：SNP 为单核苷酸多态性。

表 4　肝纤维化对糖尿病微血管并发症因果关系的敏感性分析（反向）

暴露因素	结局	水平多效性检验（MR-Egger）			异质性检验			
		截距	*SE*	*P* 值	IVW		MR-Egger	
					Q 值	*P* 值	*Q* 值	*P* 值
肝纤维化	糖尿病视网膜病变	0.0339	0.0333	0.3266	31.8694	0.0042	29.5102	0.0055
肝纤维化	糖尿病肾病	0.0611	0.0233	0.0210	21.3340	0.0934	13.9441	0.3778
肝纤维化	糖尿病神经病变	0.0855	0.0343	0.0268	13.8526	0.4607	7.6281	0.8670

注：IVW 为逆方差加权法。

向水平多效性；截距为正而斜率为负提示定向多效性使 IVW 估计向无效线方向稀释，这也是 IVW 与 MR-Egger 估计出现差异的原因。按照截距检验阳性时以 MR-Egger 估计为主要解读依据的原则，该两项 MR-Egger 法分析的 *OR* 值分别为 0.89、0.85，方向虽提示可能的保护效应，但差异均无统计学意义（*P* 均 ＞ 0.05），加权中位数法、简单模式法与加权模式法也得出相同结果，故认为尚无肝纤维化影响糖尿病肾病与糖尿病神经病变的因果证据。留一法分析未发现对结果有实质影响的单个 SNP。因此，在充分考虑异质性与多效性后，反向分析的结论与主分析一致，即未发现肝纤维化与糖尿病微血管并发症间的因果关系。

2.6 基因富集分析　将孟德尔随机化分析中筛选出的与因果关系显著相关的 SNP 按就近原则映射至邻近基因，并对所识别的基因进行功能富集分析。糖尿病肾病与肝纤维化间未观察到因果效应，故富集分析仅纳入糖尿病视网膜病变与糖尿病神经病变两组因果相关基因，包括 *PTPN22*、*KCNN2*、*NOTCH4*、*HLA-DPA1* 等，见表 5。

2.6.1 糖尿病视网膜病变相关因果基因的功能富集分析　糖尿病视网膜病变相关因果基因的 GO 富集分析（图 6A）显示，该组基因生物学过程注释集中于 T 细胞介导的免疫调节，富集分数位居前列的条目依次为 T 细胞激活、T 细胞增殖的正调节、淋巴细胞增殖的正调节、单核细胞增殖的正调节与白细胞增殖的正调节，此外还包括 T 细胞增殖的调节、细胞-细胞黏附的调节、T 细胞增殖、T 细胞活化的正调节及淋巴细胞增殖的调节。细胞组分注释以抗原加工与提呈相关结构为主，包括主要组织相容性复合体Ⅱ类蛋白复合物、主要组织相容性复合体蛋白复合物、内质网膜腔面的整合组分、内质网膜腔面与膜的腔面，同时涉及网格蛋白有被的内吞泡及其膜、内质网到高尔基体运输囊

表5 与糖尿病视网膜病变/糖尿病神经病变和肝纤维化因果关系相关SNP的基因定位

SNP	*P*值	基因组位置（GRCh37）	染色体	基因
糖尿病视网膜病变				
rs12567811	2.06×10^{-6}	201629468	chr1	*NAV1*
rs2476601	1.71×10^{-22}	114377568	chr1	*PTPN22*
rs2476601	1.71×10^{-22}	114377568	chr1	*AP4B1-AS1*
rs115305913	4.23×10^{-6}	113528825	chr5	*KCNN2*
rs915894	1.77×10^{-65}	32190390	chr6	*NOTCH4*
rs28449420	1.20×10^{-6}	33045530	chr6	*HLA-DPA1*
rs28449420	1.20×10^{-6}	33045530	chr6	*HLA-DPB1*
rs2534659	6.17×10^{-22}	31472149	chr6	*MICB*
rs849095	4.42×10^{-6}	156362735	chr7	*RNF32-DT*
rs689	1.36×10^{-23}	2182224	chr11	*INS*
rs689	1.36×10^{-23}	2182224	chr11	*INS-IGF2*
rs7337261	1.42×10^{-6}	30869941	chr13	*KATNAL1*
rs12598732	3.77×10^{-6}	85626196	chr16	*GSE1*
rs74203920	2.29×10^{-9}	45714294	chr21	*AIRE*
糖尿病神经病变				
rs2476601	4.53×10^{-10}	114377568	chr1	*PTPN22*
rs2476601	4.53×10^{-10}	114377568	chr1	*AP4B1-AS1*
rs2516466	7.03×10^{-10}	31414327	chr6	*LINC01149*
rs9273364	5.22×10^{-46}	32626302	chr6	*HLA-DQB1-AS1*
rs4879800	6.41×10^{-7}	34509575	chr9	*DNAI1*
rs11603378	2.62×10^{-6}	2165173	chr11	*IGF2*
rs11603378	2.62×10^{-6}	2165173	chr11	*IGF2-AS*
rs11603378	2.62×10^{-6}	2165173	chr11	*INS-IGF2*
rs142992018	4.78×10^{-6}	23938350	chr22	*DRICH1*

注：SNP为单核苷酸多态性。

泡膜、反面高尔基网膜以及外壳蛋白Ⅱ包被的内质网到高尔基体转运囊泡。分子功能注释则集中于抗原识别与信号转导，包括胰岛素样生长因子受体结合、激素活性、胰岛素受体结合、肽抗原结合、主要组织相容性复合体Ⅱ类受体活性、抗原结合、受体配体活性、信号受体激活剂活性、动力蛋白轻链结合与钙激活钾通道活性。KEGG通路分析显示（图7A），该组基因富集于15条免疫相关通路，基因比例在0.25～0.36。其中1型糖尿病通路的基因比例最高，且色彩标度提示其显著性居各通路之首，主要由*INS*贡献；*HLA-DPB1*主要关联免疫球蛋白A产生的肠道免疫网络、移植物抗宿主病、同种异体移植物排斥、哮喘与自身免疫性甲状腺疾病；*HLA-DPA1*主要关联抗原加工与提呈、辅助性T细胞1型与2型分化与类风湿关节炎；*KCNN2*与造血细胞谱系相关。上述通路的整体分布提示该组基因的功能以自身免疫与移植免疫反应为主。

2.6.2 糖尿病神经病变相关因果基因的功能富集分析 糖尿病神经病变相关因果基因的GO富集分析（图6B）显示，该组基因的生物学过程注释同样以T细胞相关的免疫调节为主，T细胞增殖的正调节、淋巴细胞增殖的正调节、单核细胞增殖的正调节与白细胞增殖的正调节富集分数最高，并包含T细胞增殖的调节、T细胞增殖、T细胞活化的正调节、淋巴细胞增殖的调节、单核细胞增殖的调节及白细胞细胞间黏附的正调节。与糖尿病视网膜病变相关因果基因相比，该组基因的细胞组分注释呈现明显差异，以纤毛及鞭毛运动相关结构为主，包括外动力蛋白臂、轴丝动力蛋白复合体、动力蛋白复合体、轴丝与纤毛浆，此外还涉及血小板α颗粒腔、血小板α颗粒、微管相关复合体、质膜的胞质面与膜的胞质面。分子功能注释中，激素活性的富集分数最高，其后依次为动力蛋白轻链结合、动力蛋白重链结合、胰岛素样生长因子受体结合、胰岛素

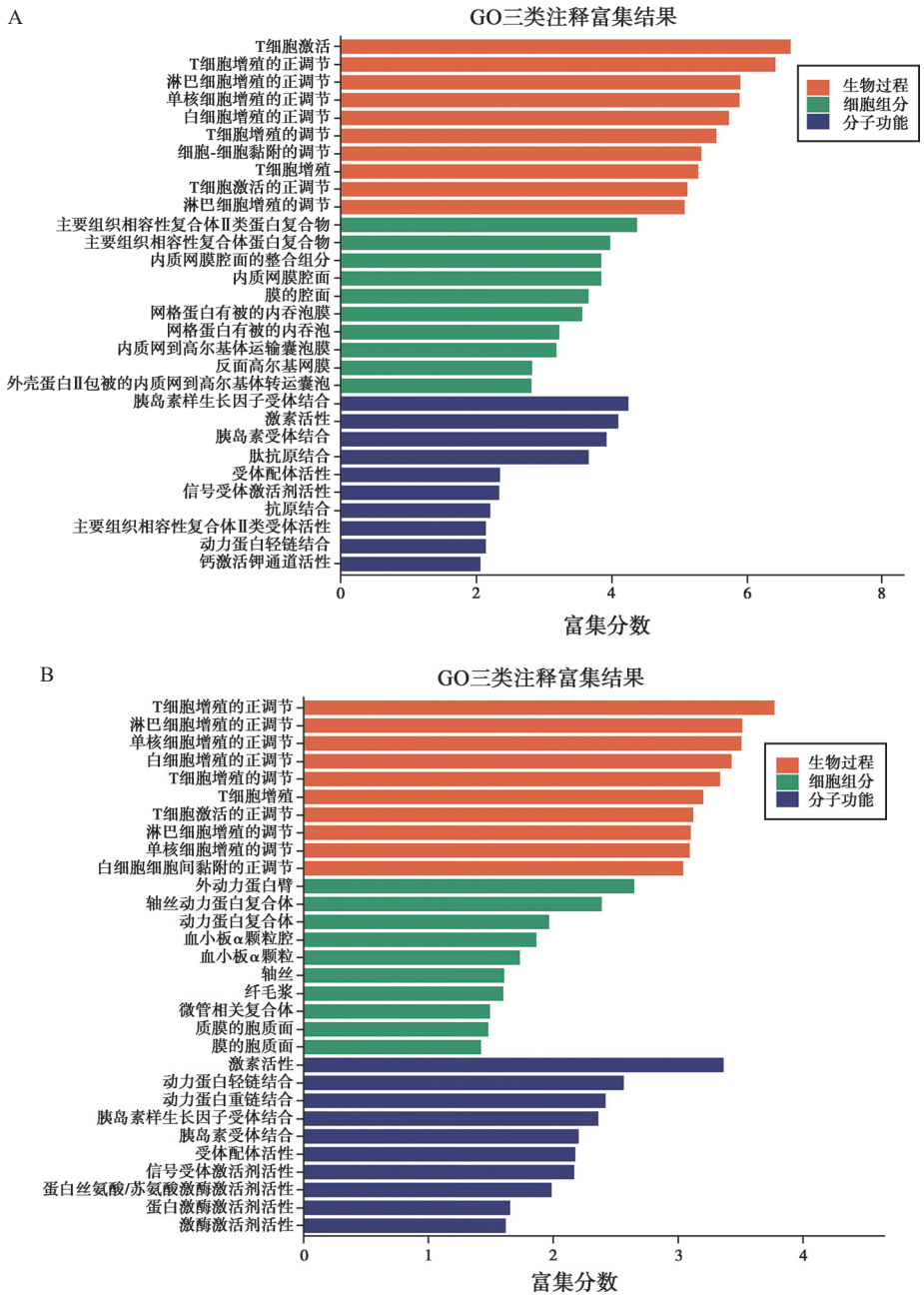


图 6　与糖尿病视网膜病变（A）/糖尿病神经病变（B）和肝纤维化因果关系相关基因的 GO 富集分析

注：GO 为基因本体论。

受体结合、受体配体活性、信号受体激活剂活性、蛋白质丝氨酸/苏氨酸激酶激活剂活性、蛋白激酶激活剂活性与激酶激活剂活性。KEGG 通路分析（图 7B）显示，该组基因涉及 8 条通路，基因比例在 0.48～0.52，但各通路的富集基因计数均为 1。其中 *IGF2* 关联肝细胞癌、癌症中的蛋白聚糖、丝裂原活化蛋白激酶信号通路、Ras 信号通路与亨廷顿病；*DNAI1* 关联神经退行性病变通路——多种疾病、肌萎缩侧索硬化（渐冻症）、磷脂酰肌醇 3-激酶/蛋白激酶 B 信号通路与亨廷顿病。由于该组结果由单基因驱动且未通过多重比较校正，其生物学意义有待扩大样本后进一步验证。

3　讨论

Lampignano 等[21]与 Li 等[22]均报道了糖尿病视网膜病变与肝纤维化间的显著关联，并将其视为 2 型糖尿病人群肝纤维化的独立预测因子，然而这些研究未能明确因果方向。本研究通过双向两样本孟德尔随机化分析，从遗传角度揭示了糖尿病视网

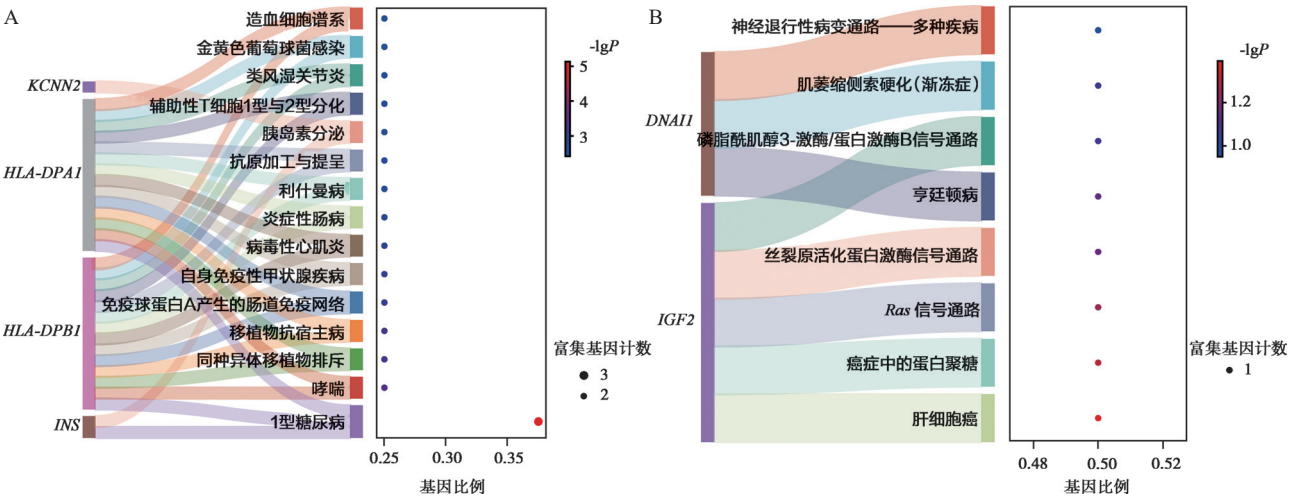


图7　与糖尿病视网膜病变（A）/糖尿病神经病变（B）和肝纤维化因果关系相关的基因KEGG富集结果

注：KEGG为京都基因与基因组百科全书。

膜病变对肝纤维化存在正向因果效应，而反向孟德尔随机化分析未发现肝纤维化对糖尿病视网膜病变的因果作用，提示糖尿病视网膜病变可能是肝纤维化的促进因素。此外，本研究还发现糖尿病神经病变与肝纤维化间存在正向因果关联，弥补了以往研究结论不一致的局限[9, 11]；另外，本研究未发现糖尿病肾病与肝纤维化间存在因果效应，这可能与糖尿病肾病的病理机制或样本异质性有关，需进一步研究验证。

为探讨糖尿病视网膜病变、糖尿病神经病变和肝纤维化潜在的生物学机制，将孟德尔随机化分析识别出的与因果关系相关的SNP定位到基因并进行基因富集分析，结果显示，*HLA-DPA1*、*HLA-DPB1*和*INS*在与1型糖尿病相关的多个通路中富集，*DNAI1*和*IGF2*在与肝细胞癌相关的通路中富集。值得注意的是，*HLA-DPA1*和*HLA-DPB1*基因编码的主要组织相容性复合体Ⅱ类分子在巨噬细胞等抗原提呈细胞中表达，参与抗原加工与提呈及免疫调节过程；巨噬细胞作为慢性炎症和纤维化发生发展的关键参与者，其功能状态与肝纤维化进展密切相关[23]。*IGF2*可影响磷脂酰肌醇3-激酶/蛋白激酶B信号通路，该通路对于调节巨噬细胞的迁移、增殖及协调对各种代谢和炎症刺激的反应至关重要[24]。

糖尿病视网膜病变和糖尿病神经病变促进肝纤维化发病的潜在机制可能与慢性炎症及氧化应激有关。炎症在糖尿病视网膜病变的发病机制中起关键作用，糖尿病患者体内的炎症细胞因子，如肿瘤坏死因子-α（tumor necrosis factor-α，TNF-α）、白细胞介素-6（interleukin-6，IL-6）、白细胞介素-18（interleukin-18，IL-18）和白细胞介素-1β（interleukin-1 β，IL-1β）显著上调，其表达水平与糖尿病视网膜病变的严重程度相关[25, 26]。高血糖是糖尿病神经病变的关键因素，可导致活性氧产生增加[27]，还可激活烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸（nicotinamide adenine dinucleotide phosphate，NADPH）氧化酶，导致氧化应激[28]。高血糖还能引发长期的炎症反应，表现为晚期糖基化终末产物受体表达上调和核因子κB的激活[29]。在肝纤维化过程中，促炎性巨噬细胞以表达促炎细胞因子（包括TNF-α、IL-6和IL-1β）为特征。促炎性巨噬细胞在损伤早期占主导地位，可促进肝脏纤维化的维持与进展[30]。TNF-α在肝星状细胞激活和细胞外基质合成中起关键作用[31, 32]。IL-1β可使肝细胞中炎症和促脂肪细胞趋化因子单核细胞趋化蛋白-1（monocyte chemoattractant protein-1，MCP-1）水平升高，并增强巨噬细胞中Toll样受体4介导的炎症信号转导[33]。因此，糖尿病视网膜病变和糖尿病神经病变可影响体内促炎细胞因子浓度，从而促进肝纤维化的进展。

本研究尚存在一定局限性。第一，为确保有足够数量的工具变量，本研究采用了较全基因组显著性水平（$P<5\times10^{-8}$）宽松的阈值（$P<5\times10^{-6}$），可能纳入关联强度稍弱的SNP，理论上增加了弱工具变量偏倚与效应估计不精确的风险。为控制其影响，对全部纳入SNP计算了*F*统计量，结果均大于10（多数大于100），表明不存在实质性弱工具变量偏倚；并采用MR-Egger截距检验与多种估计方法交叉验证，主要阳性结果在多种方法中方向一致，提示结论对该阈值选择不敏感。未来研究可

采用更严格的阈值或在独立数据集中重复验证。第二，研究人群均为欧洲裔，缺乏其他种族样本，结果的普遍性有待在多族群样本中进一步验证。第三，部分分析存在异质性（正向分析中的糖尿病肾病与糖尿病神经病变、反向分析中的糖尿病视网膜病变），残留异质性可能源于未测量的环境或遗传因素及各 SNP 效应精度的差异，但主要结果方向在多种方法及留一法分析中保持稳定；反向分析中糖尿病肾病与糖尿病神经病变两项 MR-Egger 截距检验呈阳性，提示存在定向水平多效性，相关阴性结论的解读需保持谨慎。第四，本研究基于遗传工具变量推断因果关系，结论尚需在独立人群中进一步验证。

综上，糖尿病视网膜病变和糖尿病神经病变与肝纤维化间存在正向因果关系，而糖尿病肾病及反向路径未显示因果关系。这一发现为糖尿病微血管并发症在肝纤维化发展中的潜在作用提供了新证据，提示对糖尿病视网膜病变和糖尿病神经病变患者进行肝纤维化筛查非常重要，改善微血管代谢紊乱可能是治疗肝纤维化的新方向，但未来仍需进一步验证。

利益冲突 所有作者声明不存在利益冲突

人工智能使用声明 本文未使用任何人工智能相关工具对文字、表格及图片进行处理

参考文献

[1] Abdlaty R，Abbass M A，Awadallah A M. Toward near real-time precise supervision of radiofrequency ablation for liver fibrosis using hyperspectral imaging [J]. Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc，2025，336：125994.

[2] Harreiter J，Roden M. Diabetes mellitus：definition，classification，diagnosis，screening and prevention（Update 2023）[J]. Wien Klin Wochenschr，2023，135（Suppl 1）：7-17.

[3] Tan T E，Wong T Y. Diabetic retinopathy：looking forward to 2030[J]. Front Endocrinol（Lausanne），2023，13：1077669.

[4] Simó-Servat O，Hernández C，Simó R. Diabetic retinopathy in the context of patients with diabetes [J]. Ophthalmic Res，2019，62（4）：211-217.

[5] Yeung A M，Huang J，Nguyen K T，et al. Painful diabetic neuropathy：the need for new approaches [J]. J Diabetes Sci Technol，2024，18（1）：159-167.

[6] Feldman E L，Callaghan B C，Pop-Busui R，et al. Diabetic neuropathy [J]. Nat Rev Dis Primers，2019，5（1）：42.

[7] Valencia W M，Florez H. How to prevent the microvascular complications of type 2 diabetes beyond glucose control [J]. BMJ，2017，356：i6505.

[8] Pan X，Lin X，Huang X，et al. The burden of diabetes-related chronic kidney disease in china from 1990 to 2019 [J]. Front Endocrinol（Lausanne），2022，13：892860.

[9] Erdogan B T，Tam A A，Baser H，et al. Relationship between fibrosis-4 score and microvascular complications in patients with type 2 diabetes mellitus [J]. Arab J Gastroenterol，2024，25（3）：269-274.

[10] Mantovani A，Morieri M L，Aldigeri R，et al. MASLD，hepatic steatosis and fibrosis are associated with the prevalence of chronic kidney disease and retinopathy in adults with type 1 diabetes mellitus [J]. Diabetes Metab，2024，50（1）：101497.

[11] Trivedi H D，Tran Q，Fricker Z，et al. Type 2 diabetes complications are associated with liver fibrosis independent of hemoglobin A_{1c} [J]. Ann Hepatol，2023，28（3）：101087.

[12] Davey Smith G，Hemani G. Mendelian randomization：genetic anchors for causal inference in epidemiological studies [J]. Hum Mol Genet，2014，23（R1）：R89-R98.

[13] Cui H，Zhang W，Zhang L，et al. Risk factors for prostate cancer：an umbrella review of prospective observational studies and Mendelian randomization analyses [J]. PLoS Med，2024，21（3）：e1004362.

[14] Nguyen K，Mitchell B D. A guide to understanding Mendelian randomization studies [J]. Arthritis Care Res（Hoboken），2024，76（11）：1451-1460.

[15] Cao Z，Wu Y，Li Q，et al. A causal relationship between childhood obesity and risk of osteoarthritis：results from a two-sample Mendelian randomization analysis [J]. Ann Med，2022，54（1）：1636-1645.

[16] Wang J，Li M，Zhang Z，et al. Association between mental disorders and trigeminal neuralgia：a cohort study and Mendelian randomization analysis [J]. J Headache Pain，2025，26（1）：74.

[17] Papadimitriou N，Dimou N，Tsilidis K K，et al. Physical activity and risks of breast and colorectal cancer：a Mendelian randomisation analysis [J]. Nat Commun，2020，11（1）：597.

[18] Yoshikawa M，Asaba K. Educational attainment decreases the risk of COVID-19 Severity in the European population：a two-sample Mendelian randomization study [J]. Front Public Health，2021，9：673451.

[19] Jiao R，Li W，Song J，et al. Causal association between asthma and periodontitis：a two-sample Mendelian randomization analysis [J]. Oral Dis，2024，30（3）：1564-1572.

[20] Chen Y，Mao R，Chang Q，et al. A causal effects of neutrophil extracellular traps and its biomarkers on acute respiratory distress syndrome：a two-sample Mendelian randomization study [J]. Sci Rep，2025，15（1）：11995.

[21] Lampignano L，Niro A，Castellana F，et al. Liver fibrosis and retinal features in an older Mediterranean population：results from the Salus in Apulia study [J]. Front Neurosci，2022，16：1048375.

[22] Li J，Xiang Y，Han J，et al. Retinopathy as a predictive indicator for significant hepatic fibrosis according to T2DM status：a cross-sectional study based on the national health and nutrition examination survey data [J]. Ann Hepatol，2024，29（4）：101478..

[23] Moreno-Lanceta A，Medrano-Bosch M，Fundora Y，et al. RNF41 orchestrates macrophage-driven fibrosis resolution and hepatic regeneration [J]. Sci Transl Med，2023，15（704）：eabq6225.

[24] Vergadi E，Ieronymaki E，Lyroni K，et al. Akt signaling pathway in macrophage activation and M_1/M_2 polarization [J]. J Immunol，2017，198（3）：1006-1014.

[25] Seo H，Park S J，Song M. Diabetic retinopathy（DR）：mechanisms，

current therapies, and emerging strategies［J］. Cells, 2025, 14（5）: 376.
［26］ Yue T, Shi Y, Luo S, et al. The role of inflammation in immune system of diabetic retinopathy: molecular mechanisms, pathogenetic role and therapeutic implications［J］. Front Immunol, 2022, 13: 1055087.
［27］ Vincent A M, Russell J W, Low P, et al. Oxidative stress in the pathogenesis of diabetic neuropathy［J］. Endocr Rev, 2004, 25（4）: 612-628.
［28］ Pathak R, Sachan N, Chandra P. Mechanistic approach towards diabetic neuropathy screening techniques and future challenges: a review［J］. Biomed Pharmacother, 2022, 150: 113025.
［29］ Bierhaus A, Nawroth P P. Multiple levels of regulation determine the role of the receptor for AGE（RAGE）as common soil in inflammation, immune responses and diabetes mellitus and its complications［J］. Diabetologia, 2009, 52（11）: 2251-2263.
［30］ Zhang J, Liu Y, Chen H, et al. MyD88 in hepatic stellate cells enhances liver fibrosis via promoting macrophage M_1 polarization［J］. Cell Death Dis, 2022, 13（4）: 411.
［31］ Bai J, Qian B, Cai T, et al. Aloin attenuates oxidative stress, inflammation, and CCl_4-induced liver fibrosis in mice: possible role of TGF-beta/Smad signaling［J］. J Agric Food Chem, 2023, 71（49）: 19475-19487.
［32］ Crespo J, Rivero M, Fábrega E, et al. Plasma leptin and TNF-alpha levels in chronic hepatitis C patients and their relationship to hepatic fibrosis［J］. Dig Dis Sci, 2002, 47（7）: 1604-1610.
［33］ Petrasek J, Bala S, Csak T, et al. IL-1 receptor antagonist ameliorates inflammasome-dependent alcoholic steatohepatitis in mice［J］. J Clin Invest, 2012, 122（10）: 3476-3489.

收稿日期：2025-04-11

程名，张婷，万雄飞. 糖尿病微血管并发症与肝纤维化因果关系的孟德尔随机化研究［J/CD］. 中国肝脏病杂志（电子版），2026，18（3）：53-66.

·读者·作者·编者

本刊对来稿中表格的要求

文内表格的设置应有助于简洁、明了、直观地表达结果。若表中的内容简单，仅少数几个统计数字，用简洁文字可表达清楚的，可删去表格，选用文字描述；若文字叙述冗长繁琐，而用表格表达便于理解，则建议作者选用表格。表、图、文字描述三者之间应无重复。

表格设计的基本原则是重点突出、简单明了，主谓分明、层次清楚，结构完整、有自明性。自明性即只看表，不阅读正文，即可理解统计或对比的意义。

表格一律采用三线表，即以表顶线、表头线、表底线3条横线为基本线条构架的表。每个表均应有序号和表题，居中排印在表的上方。表的序号一律用阿拉伯数字。全文只有一个表时，表序号为“表1”。表题说明表的内容，应简明扼要，突出中心。

表头由主语横标目和谓语纵标目组成，表明表格内的项目。所谓主语、谓语，是根据表格所要表达的内容划分的。被研究事物的主要标志，或者说是分组标志，一般作为主语；而各类统计指标，一般作为谓语。主语一般安排在表的左侧，谓语一般安排在表的右侧。尽量避免主谓语倒置，影响表格的表达效果。

本刊编辑部