

本文引用: 胡嘉仪, 刘泓岑, 龚胜兰, 等. 基于两样本孟德尔随机化方法探讨血清睾酮水平与动脉粥样硬化的因果关联[J]. 中国动脉硬化杂志, 2024, 32(4): 339-346. DOI: 10.20039/j.cnki.1007-3949.2024.04.009.

[文章编号] 1007-3949(2024)32-04-0339-08

· 流行病学研究 ·

基于两样本孟德尔随机化方法探讨血清睾酮水平与动脉粥样硬化的因果关联

胡嘉仪^{1,2}, 刘泓岑^{1,2}, 龚胜兰¹, 谢天¹, 张天奉¹

1. 广州中医药大学深圳医院(福田)心血管病科, 广东省深圳市 518034; 2. 广州中医药大学第六临床医学院, 广东省深圳市 518034

[摘要] [目的] 探讨基因预测的血清睾酮水平与全身多部位动脉粥样硬化是否存在因果关系。[方法] 基于两项分别来自国外的关于睾酮与动脉粥样硬化的欧洲人群全基因组关联研究汇总数据库, 采用两样本孟德尔随机化分析方法, 将与睾酮相关的遗传变异数据作为工具变量, 利用逆方差加权法、MR-Egger 回归和加权中位数估计等方法评估睾酮与动脉粥样硬化之间的因果效应。[结果] 逆方差加权法分析结果显示, 基因预测的血清睾酮水平与外周动脉粥样硬化的风险呈负相关($OR=0.93, 95\% CI: 0.86 \sim 1.00, P=0.01$), 睾酮升高可能减少患外周动脉粥样硬化的风险, 而与脑动脉粥样硬化、冠状动脉粥样硬化及其他部位动脉粥样硬化(除脑动脉、冠状动脉和外周动脉)之间均未发现潜在因果关联的证据($P>0.05$)。[结论] 孟德尔随机化分析结果显示睾酮与外周动脉粥样硬化发生的风险有一定的因果关系, 睾酮治疗在动脉粥样硬化防治中的前景值得开拓及进一步研究。

[关键词] 孟德尔随机化研究; 动脉粥样硬化; 睾酮; 因果关联

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

Exploring the causal association between testosterone and atherosclerosis based on a two-sample Mendelian randomization analysis

HU Jiayi^{1,2}, LIU Hongcen^{1,2}, GONG Shenglan¹, XIE Tian¹, ZHANG Tianfeng¹

1. Department of Cardiovascular Medicine, Shenzhen Hospital of Guangzhou University of Chinese Medicine (Futian), Shenzhen, Guangdong 518034, China; 2. The Sixth Clinical Medical College of Guangzhou University of Chinese Medicine, Shenzhen, Guangdong 518034, China

[ABSTRACT] **Aim** To study whether genetically predicted serum testosterone level is causally associated with systemic multisite atherosclerosis. **Methods** Based on two pooled databases of genome-wide association studies on testosterone and atherosclerosis in European populations from two separate foreign countries, the causal effect between testosterone and atherosclerosis was assessed using two-sample Mendelian randomization analysis with data on testosterone-associated genetic variants as instrumental variables (IV), and by using the inverse-variance weighted (IVW) method, MR-Egger regression, and weighted median estimation. **Results** IVW results showed that genetically predicted circulating testosterone levels were negatively associated with the risk of peripheral atherosclerosis ($OR=0.93, 95\% CI: 0.86 \sim 1.00, P=0.01$), and that elevated testosterone level may reduce the risk of developing peripheral atherosclerosis, while no evidence of a potential causal association was found with cerebral atherosclerosis, coronary atherosclerosis and other atherosclerosis type ($P>0.05$). **Conclusion** The final analysis showed a causal relationship between genetically predicted testosterone level and the risk of developing peripheral atherosclerosis, and the role of testosterone therapy in the prevention and treatment of atherosclerosis deserves attention and further study.

[KEY WORDS] Mendelian randomization study; atherosclerosis; testosterone; causality

[收稿日期] 2023-11-15

[修回日期] 2024-02-22

[基金项目] 广东省中医药局科研项目(20184018);深圳市福田区卫生公益性科研项目(FTWS2020007);中国博士后科学基金面上资助(2023M740855)

[作者简介] 胡嘉仪, 硕士研究生, 研究方向为中医药治疗心血管疾病, E-mail: asd8280@126.com。通信作者张天奉, 博士后, 主任医师, 博士研究生导师, 研究方向为中医药治疗心血管疾病, Email: ztf0755@163.com。

动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)是一种累及全身大中型动脉的慢性炎症性病变,可涉及动脉平滑肌细胞(smooth muscle cell, SMC)增殖、脂质积聚及炎症细胞浸润等多种病理机制,其发展过程中可导致血管狭窄、堵塞,从而影响血流,最终导致器官缺血后并发缺血性心脏病、中风和周围血管疾病,以上统称为心血管疾病(cardiovascular disease, CVD)^[1]。As是CVD的主要原因,它不仅危害心脏大血管(例如冠状动脉),还影响外周血管。具有临床意义的As主要发生在老年人中,尽管在一些国家其发病率有所下降,但仍然是人类死亡的主要原因之一。寻找和干预As的危险因素对于预防和降低相关疾病的发生至关重要^[2]。

睾酮(testosterone, T)是主要的内源性雄激素,睾酮受体广泛分布于睾丸、神经系统、心房和心室肌、大中动脉,参与许多生理过程。动物研究表明,睾酮能够调节血清胆固醇代谢、内皮细胞功能,具有抗As的作用,防止心血管事件的发生,这可能是通过其抗炎特性实现的^[3]。在人类,内源性血清睾酮水平与CVD之间的关系已被广泛研究^[4]。回顾性及观察性研究发现睾酮水平降低会增加10年内患CVD的风险及死亡率。部分研究认为血清睾酮水平降低可作为As及CVD发生的独立危险因素,然而大型前瞻性研究尚未证实内源性睾酮水平与冠状动脉事件之间存在显著且独立的关联^[5-7]。最近一项观察性研究发现As与男性睾酮水平呈负相关,提示As的发展可能受睾酮水平影响^[8-9]。睾酮疗法日益受到关注,既往有研究报告称接受睾酮治疗的患者可能加速冠状动脉斑块的进展,增加CVD事件发生^[10],然而最新的一项RCT研究表明睾酮治疗未增加主要心血管事件^[11]。目前血清睾酮水平与As之间关联的流行病学证据仍存在争议。一项多种族的年龄介于45~84岁的人群队列研究,通过观察内膜中膜厚度(intima-media thickness, IMT)的颈动脉标志物发现睾酮水平越低,As的发生风险越低^[12]。

由此看来,雄激素可以对与As和CVD发病机制有关的多种因素发挥明显有益和有害的作用^[13]。总的来说,睾酮水平与As之间的关系复杂且存在争议,仍需要更多的研究以更好地理解二者之间的关联。

孟德尔随机化(Mendelian randomization, MR)研究是流行病学研究的有力工具,旨在利用遗传变异作为工具变量调查和推断风险因素与特定结局之间的因果关系。单核苷酸多态性(single nucleotide

polymorphism, SNP)是最常用的遗传变异,MR利用遗传变异在配子形成过程中的随机分裂与组合的特性来模拟对人群的随机分配过程,从而帮助人们更好地理解遗传变异与各种特性或疾病之间的关系^[14]。同时SNP在胚胎发育时期就形成,较少受后天因素的影响,且与疾病状况无关,因此有效地避免观察性研究中可能存在的混杂因素,从而避免了反向因果偏倚^[15]。此法可与传统的观察性研究设计和临床前研究相结合,本研究通过评估血清睾酮水平与As之间的潜在因果关系,更好地为As的防治提供信息及新思路。

1 资料和方法

1.1 研究设计

本研究采用两样本MR方法研究血清睾酮水平与As的风险和关系。运用MR分析需要满足三个重要假设(图1)。首先,被筛选为工具变量的遗传变异应与睾酮水平密切相关。其次,使用的遗传变异独立于风险因素-结果关联的混杂因素。第三,遗传变异仅通过暴露影响结果。本研究数据仅使用去识别化、公开的、摘要级别的数据,伦理知情及批准均在原始研究中进行,因此不需要额外的伦理许可和批准。本文选取睾酮为暴露因素,利用当前公开且免费下载的全基因组关联研究(genome-wide association study, GWAS)获取与睾酮水平强关联的SNP作为工具变量。结局数据为各部位As,其数据从芬兰生物银行(FinnGen)中下载。最后采用互补的MR方法进行因果推断及对MR结果进行相应的敏感性分析以评估结果的稳定性。

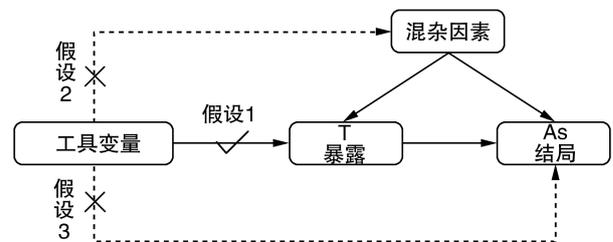


图1. 孟德尔随机化研究设计图

Figure 1. Mendelian randomization study design

1.2 数据来源

在本研究中,两样本MR研究的睾酮暴露数据来源于国外开源的IEU Open GWAS project网站(<https://gwas.mrcieu.ac.uk/>),该汇总数据研究覆盖2018

年以前的 426 940 例欧洲人群参与者,共有 13 585 069 个 SNP 位点(GWAS ID:ukb-d-30850_raw)。

As 的汇总数据基于 FinnGen 的第 7 次释放数据,有关参与者、基因平台和统计分析方案的详细信息可参考 FinnGen 网站(<https://www.finnngen.fi/en/>)。FinnGen 研究是一项基于人群的队列研究,结合了芬兰生物库的基因型数据和芬兰健康登记处的健康记录数据,每个终点均由国际疾病分类(international classification of disease, ICD) 编码定义。性别不明确、基因型高度缺失(>5%)、杂合性过多($\pm 4SD$)和非芬兰血统的个体被排除在外^[16]。

在 FinnGen 的研究中,来自不同部位的 As 病例皆通过相应的 ICD 编码来定义,如表 1 中的数据所示,冠状动脉粥样硬化的样本量为 296 542 例,其中包括 36 418 例病例和 260 124 例对照;外周动脉粥样硬化的样本量为 236 794 例,其中包括 11 197 例病例和 225 597 例对照;脑动脉粥样硬化的样本量为 309 154 例,其中包括 221 例病例和 308 933 例对照;其他部位 As(除脑动脉、冠状动脉和外周动脉)的样本量为 299 827 例,其中包括 11 189 例病例和 288 638 例对照^[17]。虽然数据来源于开源的汇总级数据,但多数为非识别化数据,因此其中总体年龄和性别信息无法从 GWAS 的汇总结果中计算出来。以上暴露及结局研究仅限于欧洲血统的参与者,以尽量减少人口结构造成的偏倚。

表 1. 按部位划分的动脉粥样硬化 ICD 编码

Table 1. ICD codes for atherosclerosis by site

不同部位 As	ICD-10	ICD-9	ICD-8
外周动脉粥样硬化	I70.2	4402	4402
冠状动脉粥样硬化	2,Z95.1	414,9960A	414
脑动脉粥样硬化	I67.2	4370	437
其他部位 As	I70	4404370,4371X	440

1.3 工具变量的选择

工具变量的筛选标准:(1)以睾酮为暴露因素,提取与睾酮有意义的 SNP($P < 5 \times 10^{-8}$)作为工具变量,结局变量为 As。(2)设置连锁不平衡(linkage disequilibrium, LD)参数 r^2 阈值为 0.01,为保证工具变量间的独立性,排除 LD 对结果的影响并筛选符合工具变量的 SNP,设置遗传距离为 5 000 kb。(3)对数据进行预处理,使工具变量的效应等位基因对齐,即将暴露 GWAS 中鉴定出的 SNP 与结果 GWAS 中的 SNP 进行协调,将等位基因在同一条链上对齐

以确保睾酮与动脉粥样硬化 GWAS 之间碱基对的一致性。(4)最后,计算分析中所有 SNP 的 F 统计量。工具变量对每个假定危险因素的相关强度用 F 统计量来量化, $F > 10$ 说明不存在弱工具变量偏倚,其计算公式为 $F = \beta^2 / \text{se}^2$ ^[18]。

1.4 统计分析

通过 Two Sample MR 软件包(版本 0.5.7)和 R 软件(版本 4.3.1)进行两样本孟德尔随机化(two sample Mendelian randomization, TSMR)集成和分析数据,研究以随机效应模型的逆方差加权(inverse variance weighted, IVW)方法为主要分析方法来获得因果估计。该方法使用 SNP 特异性 Wald 比率的加权回归来评估基因预测睾酮对 As 的因果影响。IVW 的原理是在保证所有工具变量(instrumental variable, IV)有效的同时,将每个工具变量的方差倒数作为权重,回归不考虑截距项,最终结果是所有 IV 效应值的加权平均值。同时,鉴于研究结局为二分类变量,为了更好地解释结果,将研究中获得的 Beta 值转换为比值比(OR)。为了保证 MR 分析结果的可靠性,同时进行其他四种敏感性评估方法以补充并检验结果的稳健性及潜在的多效性,即采用 MR-Egger 回归、加权中位数(weighted median estimator, WME)、简单模式和加权模式法。MR-Egger 是使用结局方差的倒数作为权重来进行拟合。它既能进行 MR 分析,又能使用截距检验检测关联之间的潜在多效性,斜率则为因果效应的估计值。如果没有水平多效性,IVW 结果将是无偏倚的。WME 方法则提供一致的因果估计,此法假设一半的遗传变异来自无效工具以探索结果的可靠性^[19]。简单模式方法以进一步减少偏差^[20]。

1.5 敏感性分析

敏感性分析主要包括异质性检验、水平多效性检验及留一法分析。异质性检验方面,Coherence's I^2 值主要用于评估 SNP 估计值之间的异质性。 $P < 0.05$ 代表存在异质性,若存在异质性,则采用随机效应 IVW 方法,反之,则选择固定效应模型评估 MR 效应量;MR-Egger 回归允许水平多效性效应并提供无偏因果效应估计,因此在多效性检验方面,主要以 MR-Egger 回归检验来识别与睾酮相关的 SNP 是否存在多效性,并以 P MR-Egger 截距值大于 0.05 表明因果分析中存在多效性的可能性较小。而为了检验结果的稳定性,同时使用留一法分析来识别可能影响因果效应的血清睾酮水平相关的 SNP,并判断潜在的异常值。此外,为了避免单个 SNP 引起的水平多效性,还使用留一法分析来识别可能影响

因果效应的睾酮相关 SNP, 并识别潜在的异常值。除此以外, 本文利用 PhenoScanner V2 (PhenoScanner.cam.ac.uk) 剔除受混杂因素影响、违反 MR 核心假设 2 和 3 的 SNP (rs75460349、rs59679370) 以验证结果是否稳定, 其与胆固醇、高密度脂蛋白等血脂指标以及体质指数 (body mass index, BMI) 等密切相关, 剔除混杂部分将另外行独立的 MR 分析与未剔除前比较。最后本研究提供散点图对每个 SNP 与睾酮水平和 As 之间的关联进行可视化分析与展示。

2 结果

2.1 孟德尔随机化分析结果

去除所有存在连锁不平衡的工具变量后, 研究

中所纳入的 SNP 共 153 个, 部分 SNP 信息见表 2, *F* 统计量均大于 10, 反映数据结果偏倚较小。

本研究 MR 结果最终显示了基因预测的血清睾酮水平与不同部位 As 之间的关系。IVW 分析结果显示, 基因预测的血清睾酮水平可能是外周动脉粥样硬化的保护性因素, 两者呈负相关。睾酮水平越低, 外周动脉粥样硬化的风险越高 (OR = 0.93, 95% CI: 0.86 ~ 1.00, *P* = 0.01)。另外, 基因预测的睾酮水平与冠状动脉粥样硬化和脑动脉粥样硬化风险均未发现存在统计学意义的证据 (OR = 0.91, 95% CI: 0.69 ~ 1.22, *P* = 0.243; OR = 1.16, 95% CI: 0.34 ~ 4.02, *P* = 0.810)。研究还进一步观察到其他部位 As 的发生与睾酮水平之间无统计学意义 (OR = 0.95, 95% CI: 0.89 ~ 1.01, *P* = 0.108; 图 2)。

表 2. 与睾酮相关的部分 SNP

Table 2. Selected SNP associated with testosterone

SNP	EA	OA	EAF	CHR	β	SE	POS	<i>P</i>
rs10779612	A	G	0.75672	1	-0.045231	0.0079125	214318000	1.09E-08
rs12406721	T	G	0.34269	1	0.067468	0.0071642	107563243	4.66E-21
rs35737316	T	C	0.24516	1	0.068252	0.0078961	204161534	5.46E-18
.....								
rs17311684	G	A	0.069727	1	0.083217	0.013246	61712081	3.34E-10
rs4970485	T	C	0.20282	1	-0.047011	0.0084121	26871200	2.29E-08
rs3768321	T	G	0.1968	1	-0.060179	0.0085189	40035928	1.62E-12

注: EA: 效应等位基因; OA: 非效应等位基因; EAF: 效应等位基因频率; CHR: 染色体; β: 等位基因效应值; SE: β 的标准误; POS: 位置。

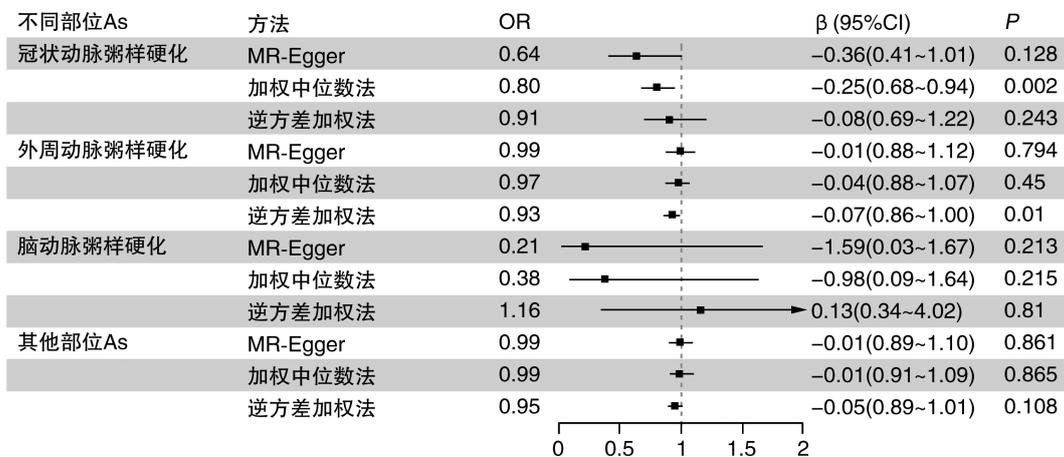


图 2. 睾酮水平与 As 因果关联森林图

Figure 2. Forest plot of the causal relationship between testosterone levels and atherosclerosis

2.2 敏感性分析结果

表 3 中呈现的 Cochran's *Q* 值反映了各部位 As 与血清睾酮水平之间存在一定的异质性 (*Q* *P* < 0.05), 进一步应用随机效应 IVW 分析方法的结果

表明血清睾酮水平与外周动脉粥样硬化 (*P* = 0.04) 确实存在因果关系, 因此异质性结果可以接受。MR-Egger 回归分析截距的 *P* 未显示存在显著水平多效性的证据 (均 *P* > 0.05), MR 结果不受水平多效

性的干扰(表 3)。经留一法分析结果表明总体的误差线变化不大,没有个别单核苷酸多态性对整体因果估计产生影响,反映结果是可靠的。

另外,本文剔除两个混杂 SNP 后,利用剩余 SNP 进行 MR 分析,均与原来结果相近,未发生显著变化。在分析睾酮与外周动脉粥样硬化关联部分,IVW 方法提示 $P < 0.05$ (表 4),有统计学意义,结果

与未剔除前基本一致,进一步验证本结果的稳健性。

散点图中每一个点对应一个 IV,展示该 IV 与暴露及结果之间的关联(图 3),总体呈现了睾酮水平与多部位 As 的关系,横坐标代表 SNP 对睾酮的效应,纵坐标是 SNP 对 As 的效应,彩色的线表示 MR 拟合结果。从图中可以看出,随着睾酮水平的升高,外周动脉粥样硬化的发病风险呈下降趋势。

表 3. 睾酮水平与 As 之间的异质性及多效性检验

Table 3. Heterogeneity test and horizontal multiplicity test between testosterone and atherosclerosis

不同部位 As	异质性		多效性检验		
	Q_P	IVW P 值	截距	se	截距的 P
冠状动脉粥样硬化	7.644 3E-13	0.059	-0.002	0.003	0.529
脑动脉粥样硬化	0.222	0.69	0.045	0.026	0.083
外周动脉粥样硬化	1.010 98E-09	0.04	-0.007	0.005	0.188
其他部位 As	2.440 53E-07	0.108	-0.004	0.004	0.347

表 4. 剔除混杂 SNP 的部分 MR 分析、异质性检验及水平多效性检验结果

Table 4. Results of partial MR analysis, heterogeneity test and horizontal multiplicity test for removal of confounding SNP

结局	MR 方法	P	OR(95% CI)	异质性	多效性检验
外周动脉粥样硬化	MR-Egger 回归	0.955 28	1.00(0.88 ~ 1.13)	9.46E-10	0.179 3
	加权中位数法	0.554 96	0.97(0.88 ~ 1.07)		
	逆方差加权法	0.049 13	0.93(0.87 ~ 1.00)		
	简单模式法	0.025 29	0.79(0.64 ~ 0.97)		
	加权模式法	0.338 52	0.95(0.85 ~ 1.06)		

3 讨论

本研究发现血清睾酮水平的高低与外周动脉粥样硬化的发生风险存在一定的因果关联,主要表现为基因预测的血清睾酮水平下降可能增加外周动脉粥样硬化的发生风险。睾酮与冠状动脉粥样硬化、脑动脉粥样硬化及其他部位 As(不包括脑动脉、冠状动脉和外周动脉)的研究结果提示不存在因果关系,这与既往观察性研究发现不同,推测可能与睾酮在不同部位 As 的水平以及各部位动脉解剖结构和功能存在差异有关。进一步究其原因:基于可能存在的残余或未测量的混杂因素,MR 分析无法直接或完全评估人口及年龄分层或其他混杂因素是否对研究结果产生影响。因此,这一差异需要澄清,尤其是考虑到糖尿病、吸烟等与 As 发展相关的风险因素。又或者睾酮水平可能只是一个整体健康质量的标志,对心脑血管等事件根本没有直接影响。

大量临床研究报告表明,睾酮水平低的男性患 As 的风险增加^[21],本文研究结果与文献报道相对一致。外周动脉粥样硬化/外周动脉疾病作为 As 的第三大临床表现,与 CVD 合并了多种危险因素,与 CVD 的发生率密切相关,其严重程度是心血管风险的预后指标^[22]。多项横断面和纵向研究表明,睾酮水平与血管 IMT 呈负相关。Svartberg 等^[23]也进一步指出 1 482 例 25 ~ 84 岁男性的总睾酮水平与颈动脉的 IMT 呈显著负相关,这种相关性不受年龄、CVD 危险因素和生活方式因素的影响。而其中有关睾酮影响 As 的发生发展机制尚不明确。炎症反应存在于 As 各个阶段,睾酮具有抗炎、抗氧化及调节脂代谢的作用,睾酮缺乏可能引起内皮功能障碍及加速血管衰老^[7]。大型队列、动物及人体研究等表明,睾酮水平与炎症反应及代谢风险呈负相关,睾酮缺乏与促炎细胞因子[白细胞介素 1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、白细胞介素 6(interleukin-6, IL-6)和肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)]的

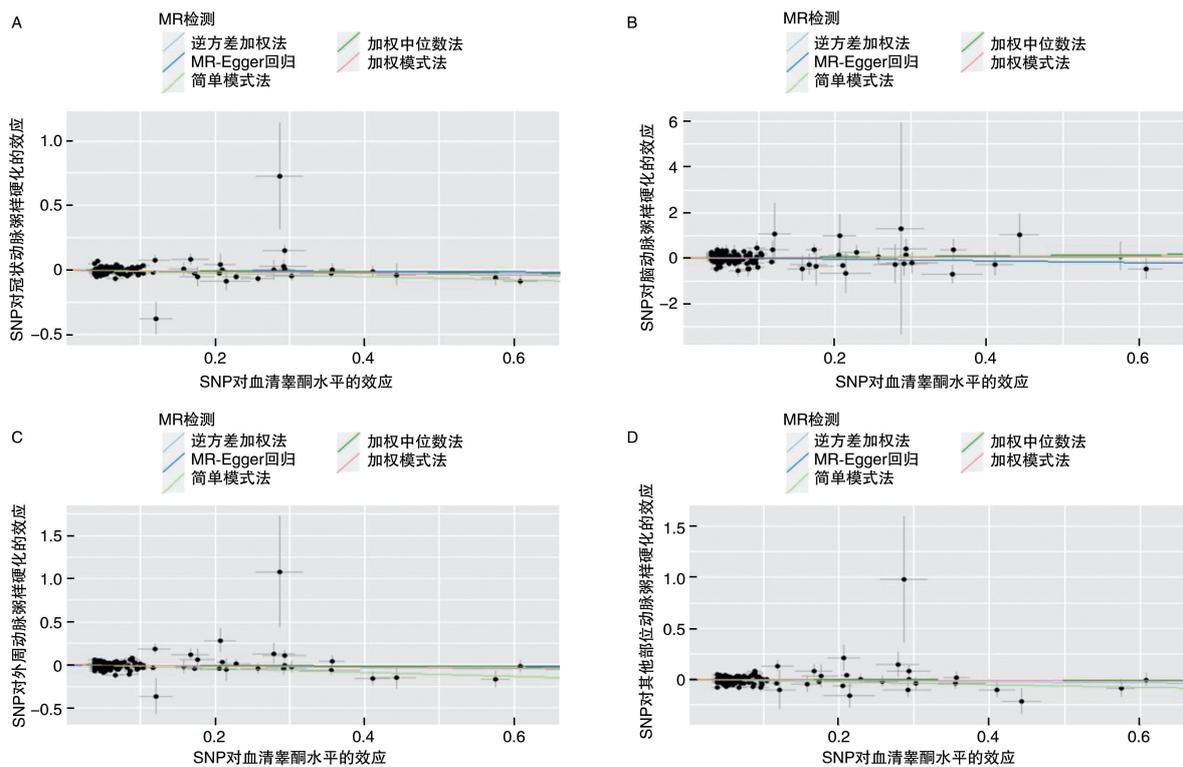


图3. 睾酮水平与As的MR结果散点图

A为冠状动脉粥样硬化;B为脑动脉粥样硬化;C为外周动脉粥样硬化;D为其他部位As。

Figure 3. Scatter plot of MR results between testosterone and atherosclerosis

分泌增加有关;促炎细胞因子可以通过调节下丘脑-垂体-性腺轴来控制睾酮释放,而睾酮可增强中性粒细胞、肥大细胞和巨噬细胞浸润到脉管系统的内膜层,最终炎性介质之间不断相互作用后继发的效应会影响斑块重塑,从而促进As病变的发展^[11]。脂质代谢方面,脂肪组织作为内分泌器官,可产生炎症细胞因子、脂肪因子和其他促炎因子,如IL-6、IL-1 β 、TNF- α 等,研究表明^[24]睾酮可通过调节脂肪组织和免疫细胞分泌细胞因子以发挥抗炎作用。综上所述,睾酮水平降低可能减轻炎症反应诱导的细胞凋亡,促进细胞增殖,最终增加As的风险及加速As的发生^[24-25]。部分研究还发现,As的发生还可能由于核因子 κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)信号通路被炎症因子激活^[26],雄激素受体信号通路在睾酮调控下可抑制NF- κ B信号通路,最终延缓As的发生或者提供潜在的保护机制^[6,24]。血管内皮功能障碍是As发生的初始阶段^[27]。在一些基础和临床研究中,睾酮已被证明可以调节一氧化氮(nitric oxide, NO)/环磷酸鸟苷(cyclic guanosine monophosphate, CGMP)通路,从而对内皮和血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cell, VSMC)的抗炎、抗凋亡和血管舒张以及募集血管修复所必需的内皮祖细胞发挥作用,高睾

酮水平有一定意义的血管保护效能,因此睾酮缺乏可能会诱发内皮功能障碍,促进As^[6,28]。除此以外,睾酮还诱导组织型金属蛋白酶抑制剂1(tissue inhibitor of metalloproteinase-1, TIMP-1)和下丘脑丝氨酸蛋白酶抑制剂A3n的表达,这两者都与细胞外基质(extracellular matrix, ECM)的降解和合成平衡有关,最终影响斑块的稳定性,促进As的病变与发展^[29]。上述研究反映睾酮可参与调控As的病理生理过程,其中涉及的机制广泛而复杂。基于睾酮与As发生风险密切关联,进一步探索两者之间因果关系有益于提供临床预防及决策。

遗传变异作为一种与生俱来的暴露因素,具有时间稳定性,受到的干扰因素相对较少,因此直接测试反而可更简便地预测睾酮水平对As结果的影响。本研究使用两样本孟德尔随机化方法进行分析并从四个不同部位As的GWAS数据中提取了基因-结果关联,并提供了相关的遗传学证据。本文运用敏感性分析进一步验证了研究结论的可靠性及稳健性,目前的分析揭示了睾酮对外周动脉粥样硬化的影响,并可能有助于提高公众对这些风险因素-结果关系的理解。低血清睾酮水平在某种程度上仍赋予了动脉粥样硬化性心血管疾病(atherosclerotic

cardiovascular disease, ASCVD) 一定的风险,这一发现或具有重要的临床意义,更精确地研究睾酮对 ASCVD 的影响可能有助于降低或预防 ASCVD 发生的可能。本研究尚存在一定的局限性,以上数据均来自欧洲人群,且 F 统计值均大于 10,虽然提示选择的工具变量是可靠的,然而即便减少了人群结构及种族间的差异性,仍无法直接推广及延用至其他种族,MR 结果的推广度仍需进一步的分析调查及验证。与所有的 MR 研究一样,我们不能解决未观察到的多效性,因此本文结果可能会存在偏差;同时统计数据难以按照性别或年龄行分层分析,研究本身若存在性别、年龄差异下,可能导致研究结果产生偏倚。血清睾酮是雄激素的组成部分之一,As 的发生及其并发症的出现具有明显的年龄及性别差异,如部分研究表明,男性发生 As 的风险更高,年轻女性不易受这种疾病的侵害,然而到了 70 岁后,女性发生心肌梗死的概率超过了男性^[2]。这可能是由于性激素作用和/或代谢的差异。观察性研究发现雄激素可能影响 As 斑块形成及动脉壁的重塑^[27,30],两者之间可能涉及多种生理及环境因素的复杂反应,后期需要进行更深入的研究。这可能包括更大规模的人群研究、动物药物防治等实验设计,以更全面地了解血清睾酮水平对 As 生物学机制的影响。

总之,本研究采用两样本 MR 的方法,对睾酮与不同部位 As 之间的因果关系进行探究,结果表明遗传预测的血清睾酮水平与外周动脉粥样硬化风险呈负相关,睾酮可能是其预防或治疗潜在的有效靶点。未来的临床研究可以利用睾酮水平作为 CVD 额外的风险分层工具,同时可能需要进一步对 As 相关的 CVD 进行基于性别及年龄分类的管理与研究。

[参考文献]

- [1] LIBBY P, BURING J E, BADIMON L, et al. Atherosclerosis[J]. *Nat Rev Dis Primers*, 2019, 5(1): 56.
- [2] BJÖRKEGREN J L M, LUSIS A J. Atherosclerosis: recent developments[J]. *Cell*, 2022, 185(10): 1630-1645.
- [3] KELLY D M, SELLERS D J, WOODROOFE M N, et al. Effect of testosterone on inflammatory markers in the development of early atherogenesis in the Testicular-Feminized mouse model[J]. *Endocr Res*, 2013, 38(3): 125-138.
- [4] 赵健, 桂士良, 崔腾腾, 等. 睾酮的生理作用及临床应用进展[J]. *中国性科学*, 2020, 29(1): 20-24.
ZHAO J, GUI S L, CUI T T, et al. Progress in the physiological role and clinical application of testosterone [J]. *Chin J Hum Sex*, 2020, 29(1): 20-24.
- [5] YANG H H, TU S K, CHEN H H, et al. Testosterone level reduction increases the 10-year risk of cardiovascular diseases: a retrospective cohort study in a taiwanese young male population[J]. *Front Cardiovasc Med*, 2022, 9: 869251.
- [6] 赵锐, 李艳. 睾酮对血管功能及动脉粥样硬化的影响及其机制的研究进展[J]. *广西医学*, 2016, 38(4): 533-536.
ZHAO R, LI Y. Advances in the study of the effects of testosterone on vascular function and atherosclerosis and its mechanisms[J]. *Guangxi Med J*, 2016, 38(4): 533-536.
- [7] BABCOCK M C, DUBOSE L E, WITTEN T L, et al. Oxidative stress and inflammation are associated with age-related endothelial dysfunction in men with low testosterone [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2022, 107(2): e500-e514.
- [8] RENKE G, TOSTES F. Cardiovascular safety and benefits of testosterone implant therapy in postmenopausal women: where are we? [J]. *Radiopharm*, 2023, 16(4): 619.
- [9] KIRLANGIC O F, YILMAZ-ORAL D, KAYA-SEZGINER E, et al. The effects of androgens on cardiometabolic syndrome: current therapeutic concepts[J]. *Sex Med*, 2020, 8(2): 132-155.
- [10] MORGENTALER A, ZITZMANN M, TRAISH A M, et al. Fundamental concepts regarding testosterone deficiency and treatment: international expert consensus resolutions [J]. *Mayo Clin Proc*, 2016, 91(7): 881-896.
- [11] KLONER R A, CARSON H C, DOBS A, et al. Testosterone and cardiovascular disease[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2016, 67(5): 545-557.
- [12] LORIGO M, MARIANA M, OLIVEIRA N, et al. Vascular pathways of testosterone: clinical implications[J]. *J Cardiovasc Transl Res*, 2020, 13(1): 55-72.
- [13] WU F C W, VON ECKARDSTEIN A. Androgens and coronary artery disease[J]. *Endocr Rev*, 2003, 24(2): 183-217.
- [14] 高雪, 薛付忠, 黄丽红, 等. 孟德尔随机化模型及其规范化应用的统计学共识[J]. *中国卫生统计*, 2021, 38(3): 471-475, 480.
GAO X, XUE F Z, HUANG L H, et al. Statistical consensus on Mendelian randomization models and their normative applications[J]. *Chin J Health Stat*, 2021, 38(3): 471-475, 480.
- [15] NETHANDER M, QUESTER J, VANDENPUT L, et al. Association of genetically predicted serum estradiol with risk of thromboembolism in men: a Mendelian randomization study[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2021, 106(8): e3078-e3086.
- [16] KURKI MI, KARJALAINEN J, PALTA P, et al. FinnGen: unique genetic insights from combining isolated population and national health register data[J/OL]. *MedRxiv*, (2022-

- 03-06). <https://doi.org/10.1101/2022.03.03.22271360>.
- [17] 崔瑞祥, 王晓昱, 左波, 等. 半乳糖凝集素 1 与动脉粥样硬化风险之间的因果关联: 一项两样本孟德尔随机化研究[J]. 中国动脉硬化杂志, 2023, 31(5): 419-426.
- CUI R X, WANG X Y, ZUO B, et al. Causal association between galectin-1 levels and the risk of atherosclerosis: a two-sample Mendelian randomization analysis[J]. Chin J Arterioscler, 2023, 31(5): 419-426.
- [18] XIE J R, HUANG H K, LIU Z N, et al. The associations between modifiable risk factors and nonalcoholic fatty liver disease: a comprehensive Mendelian randomization study[J]. Hepatology, 2023, 77(3): 949-964.
- [19] NIE Q, LUO Q, YAN W, et al. Rheumatoid arthritis and coronary atherosclerosis: a two-sample Mendelian randomization study[J]. Front Cardiovasc Med, 2023, 10: 1033644.
- [20] CAO Y, LU H, XU W Z, et al. Gut microbiota and Sjögren's syndrome: a two-sample Mendelian randomization study[J]. Front Immunol. 2023, 14: 1187906.
- [21] 杜冬杰, 陈健, 王诗悦, 等. 血残粒胆固醇水平与冠心病和心肌梗死风险的两样本孟德尔随机化研究[J]. 中国动脉硬化杂志, 2023, 31(6): 510-516.
- DU D J, CHEN J, WANG S Y, et al. Association between serum remnant cholesterol level and coronary heart disease and myocardial infarction: a two-sample Mendelian randomization study[J]. Chin J Arterioscler, 2023, 31(6): 510-516.
- [22] GRANDYS M, MAJERCZAK J, ZAPART-BUKOWSKA J, et al. Lowered serum testosterone concentration is associated with enhanced inflammation and worsened lipid profile in men[J]. Front Endocrinol (Lausanne). 2021, 12: 735638.
- [23] SVARTBERG J, VON M D, MATHIESEN E, et al. Low testosterone levels are associated with carotid atherosclerosis in men[J]. J Intern Med, 2006, 259(6): 576-82.
- [24] MOHAMAD N V, WONG S K, WAN HASAN W N, et al. The relationship between circulating testosterone and inflammatory cytokines in men[J]. Aging Male, 2019, 22(2): 129-140.
- [25] NASSER S A, AFIFY E A, KOBEISSY F, et al. Inflammatory basis of atherosclerosis: modulation by sex hormones[J]. Curr Pharm Des, 2021, 27(18): 2099-2111.
- [26] 毕千叶, 冯磊, 马琦欣, 等. 炎症因素在自身免疫性疾病与动脉粥样硬化中的研究进展[J]. 中国动脉硬化杂志, 2022, 30(5): 437-441.
- BI Q Y, FENG L, MA Q X, et al. Research progress on the association of inflammatory factors in the pathogenesis of autoimmune diseases and atherosclerosis[J]. Chin J Arterioscler, 2022, 30(5): 437-441.
- [27] CORRIGAN F E, AL MHEID I, EAPEN D J, et al. Low testosterone in men predicts impaired arterial elasticity and microvascular function[J]. Int J Cardiol, 2015, 194: 94-99.
- [28] HOTTA Y, KATAOKA T, KIMURA K. Testosterone deficiency and endothelial dysfunction: nitric oxide, asymmetric dimethylarginine, and endothelial progenitor cells[J]. Sex Med Rev, 2019, 7(4): 661-668.
- [29] YERLY A, VAN DER VORST E P C, BAUMGARTNER I, et al. Sex-specific and hormone-related differences in vascular remodelling in atherosclerosis[J]. Eur J Clin Invest, 2023, 53(1): e13885.
- [30] 郑晓彬, 李芳萍, 林刁珠, 等. 中老年男性血清睾酮与动脉粥样硬化的相关性研究[J]. 中华男科学杂志, 2015, 21(6): 536-540.
- ZHENG X B, LI F P, LIN D Z, et al. Association of serum testosterone with atherosclerosis in middle-aged and elderly men[J]. Natl J Androl, 2015, 21(6): 536-540.
- (此文编辑 许雪梅)