

基于孟德尔随机化探讨酪氨酸水平与男性不育症的因果关系

张 添*, 马奕箫, 李 硕#

西安医学院研工部, 陕西 西安

收稿日期: 2024年11月18日; 录用日期: 2024年12月11日; 发布日期: 2024年12月19日

摘 要

本研究旨在通过双样本孟德尔随机化分析, 评估酪氨酸水平(tyrosine)对男性不育症(male infertility)的因果关系。采用基因组范围关联研究(GWAS)数据, 筛选与酪氨酸水平相关的单核苷酸多态性(SNP), 并应用逆方差加权法(IVW)、MR-Egger回归、加权中位数法等多种方法进行分析。结果显示, 酪氨酸水平每增加一个标准差, 男性不育症的优势比(OR)为0.507 (95% CI: -1.203~-0.154, $P < 0.05$), 表明较高的酪氨酸水平可能与降低男性不育症风险显著相关。敏感性分析结果进一步验证了主要分析的稳健性, 未发现显著的异质性和水平多效性, 表明所选工具变量适合用于因果推断。研究结果提示酪氨酸可能在男性生殖健康中发挥重要作用, 为未来关于不育症的预防和治疗研究提供了新方向。

关键词

男性不育症, 酪氨酸, 孟德尔随机化

Exploring the Causal Relationship between Tyrosine Levels and Male Infertility Based on Mendelian Randomization

Tian Zhang*, Yixiao Ma, Shuo Li#

Postgraduate Office of Xi'an Medical University, Xi'an Shaanxi

Received: Nov. 18th, 2024; accepted: Dec. 11th, 2024; published: Dec. 19th, 2024

*第一作者。

#通讯作者。

文章引用: 张添, 马奕箫, 李硕. 基于孟德尔随机化探讨酪氨酸水平与男性不育症的因果关系[J]. 临床医学进展, 2024, 14(12): 845-852. DOI: 10.12677/acm.2024.14123158

Abstract

This study aims to assess the causal relationship between tyrosine levels and male infertility through two-sample Mendelian randomization analysis. Using genome-wide association study (GWAS) data, we identified single nucleotide polymorphisms (SNPs) associated with tyrosine levels and applied various methods, including inverse variance weighting (IVW), MR-Egger regression, and weighted median approaches for analysis. The results indicate that for each standard deviation increase in tyrosine levels, the odds ratio (OR) for male infertility is 0.507 (95% CI: -1.203~-0.154, $P < 0.05$), suggesting that higher tyrosine levels may be significantly associated with a reduced risk of male infertility. Sensitivity analysis further confirmed the robustness of the primary analysis, showing no significant heterogeneity or horizontal pleiotropy, indicating that the selected instrumental variables are suitable for causal inference. These findings suggest that tyrosine may play an important role in male reproductive health and provide new directions for future research on infertility prevention and treatment.

Keywords

Male Infertility, Tyrosine, Mendelian Randomization

Copyright © 2024 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 介绍

男性不育症(male infertility)是指男性在至少 12 个月内尝试怀孕但未能成功的情况, 全球男性生育能力的下降已引起广泛关注[1]。近年来, 研究表明, 代谢因素可能在男性生殖健康中发挥关键作用[2]。酪氨酸(tyrosine)作为一种重要的氨基酸, 在人体内参与多种生物过程[3], 包括神经递质的合成和蛋白质的构建[4]。其代谢紊乱可能对生殖功能产生负面影响[5]-[7]。

已有研究发现, 酪氨酸水平与多种健康状况相关, 包括肥胖[8] [9]、糖尿病[10] [11]和心血管疾病[12]-[14], 这些疾病本身与男性不育症密切相关。然而, 目前关于酪氨酸水平与男性不育症之间因果关系的研究相对较少。孟德尔随机化(Mendelian randomization, MR)是一种基于遗传变异的分析方法[15], 通过使用与感兴趣的暴露(如酪氨酸水平)相关的遗传变异作为工具变量, 可以有效地减少混杂因素和反向因果关系的影响[16]。这种方法利用遗传变异在个体间的随机分配特性, 使得所观察到的因果关系更具可信度[17]。

本研究旨在利用孟德尔随机化分析探讨酪氨酸水平对男性不育症的潜在因果关系, 以期为男性生殖健康的干预策略提供新的视角。

2. 材料与方法

2.1. 数据来源

本研究的数据来源于大型基因组关联研究(GWAS)数据库(<https://www.ebi.ac.uk/>), 详见表 1, 主要包括与男性不育症和酪氨酸水平相关的遗传变异信息。具体来说, 数据集包括两个 GWAS 研究: ebi-a-GCST90092993: 该数据集聚焦于酪氨酸水平, 样本量为 114,913, 包含 11,590,399 个单核苷酸多态性

(SNPs), 研究人群为欧洲人。finn-b-N14_MALEINFERT: 该数据集关注男性不育, 样本量为 73,679, 包含 16,377,329 个 SNPs, 同样基于欧洲人群体。这些数据涵盖了来自欧洲多个国家的男性不育患者及对照组的样本, 确保样本量足够大以提高研究的统计效能。此外, 使用了已发表的 GWAS 研究中关于酪氨酸水平的基因型与表型数据, 这些数据提供了酪氨酸的测定值及其相关遗传变异信息。所有参与研究的个体均经过严格筛选, 以排除可能影响结果的混杂因素, 如年龄、BMI 和生活方式因素。所有数据均符合伦理标准, 并获得了相关机构的批准。数据分析使用了 R 语言及其相关包, 以确保对数据进行适当的统计处理和遗传学分析。

Table 1. Brief information in the GWAS database for two sample MR studies

表 1. 两样本 MR 研究中 GWAS 数据库中的简要信息

GWAS_ID	Trait	Sample_Size	Number_of_SNPs	Population
ebi-a-GCST90092993	Tyrosine levels	114,913	11,590,399	European
finn-b-N14_MALEINFERT	Male infertility	73,679	16,377,329	European

2.2. 工具变量的选择

在本研究中, 工具变量的选择基于与酪氨酸水平显著相关的遗传变异。通过查阅已发表的 GWAS 文献, 确定与酪氨酸水平相关的单核苷酸多态性(SNP)。选择标准为: 与酪氨酸水平显著相关的 SNP 需达到统计显著性水平($P < 5 \times 10^{-8}$)。为保证各个 SNP 之间互相独立, 连锁不平衡系数(r^2)设置为 0.001, 区域宽度设定为 10,000 bp。所选 SNP 需满足三个主要条件: 首先, 它们与酪氨酸水平显著相关; 其次, 它们与男性不育症的发生无直接联系; 最后, 它们不应通过其他途径影响男性不育症, 即不存在混杂效应。通过现有文献和数据库对这些 SNP 进行文献回顾, 以验证其有效性。最终选择了若干个与酪氨酸水平相关的 SNP 作为工具变量, 以进行后续的孟德尔随机化分析。这些工具变量的具体信息包括其基因组位置、效应大小和相关文献来源。通过上述步骤, 确保选择的工具变量具备良好的统计学特性和生物学合理性, 为后续分析提供了坚实的基础。

2.3. MR 分析

本研究使用双样本孟德尔随机化(MR)分析的方法, 评估酪氨酸水平与男性不育症之间的因果关系。MR 研究包含三个主要假设[18]: 1) 工具变量(所筛选出的与酪氨酸水平相关的 SNP)与暴露(酪氨酸水平)具有强相关性; 2) 工具变量与混杂因素无关; 3) 工具变量只能通过暴露(酪氨酸水平)影响结局(男性不育症)。逆方差加权法(IVW)作为本研究的主要分析方法, MR-Egger 回归和加权中位数法(Weighted median method, WME)作为补充分析方法。当三种结果不一致时, 以 IVW 方法为主。

在分析过程中, 首先利用所选工具变量进行第一阶段回归, 估计酪氨酸水平的遗传效应。随后, 在第二阶段中, 使用所估计的酪氨酸水平评估其对男性不育症的影响。使用 R 语言及其相关包(如 TwoSampleMR, 版本 0.5.0)进行数据分析, 报告每个工具变量的效应大小及其对应的 95%置信区间。此外, 为了确保结果的稳健性, 进行了敏感性分析, 包括潜在的偏倚检验。

2.4. 敏感性分析

为了验证孟德尔随机化分析结果的稳健性, 本研究进行了多种敏感性分析, 具体方法如下:

首先, 异质性检验(Heterogeneity Test)用于检测来源于不同 GWAS 数据的 SNP 是否存在异质性。通过评估工具变量的异质性, 可以确定分析结果的一致性。

其次, 进行水平多效性检验(Horizontal pleiotropy Test), 以检测所选 SNP 是否同时与暴露因素和结局

直接相关。如果存在这种水平多效性，MR 分析的结果将不可信。

此外，采用逐个剔除检验(Leave-One-Out Sensitivity Test)，通过逐个剔除 SNP 后计算剩余 SNP 的 MR 结果。若剔除某个 SNP 后，其他 SNP 估计出来的 MR 结果与总结果差异很大，则说明 MR 结果对该 SNP 是敏感的。

通过以上方法，旨在确保酪氨酸水平与男性不育症之间因果关系的稳健性，并为结果的解释提供更为坚实的基础。

3. 结果

3.1. MR 结果

Table 2. The 5 MR results for tyrosine levels and male infertility
表 2. 酪氨酸水平和男性不育的 5 种 MR 结果

method	b	nsnp	pval	OR (95% CI)
MR Egger	-0.171	30	0.724	0.843 (-1.110, 0.768)
Weighted median	-0.440	30	0.257	0.644 (-1.202, 0.321)
Inverse variance weighted	-0.678	30	0.011	0.507 (-1.203, -0.154)
Simple mode	-0.581	30	0.446	0.560 (-2.054, 0.893)
Weighted mode	-0.391	30	0.353	0.676 (-1.203, 0.421)

由结果表 2 可知，本研究通过双样本孟德尔随机化分析，评估酪氨酸水平对男性不育症的因果关系。使用所选工具变量(与酪氨酸水平相关的 SNP)，进行了五种不同的 MR 分析方法，包括逆方差加权法(IVW)、MR-Egger 回归、加权中位数法(WME)、加权平均法和简单线性回归分析。

结果显示，IVW 法的分析结果表明，酪氨酸水平每增加一个标准差与男性不育症发生的优势比(OR)为 0.507 (95% CI: -1.203~-0.154)，且 P 值小于 0.05，表明酪氨酸水平的增加与男性不育症风险之间存在显著相关性。同时图 1 IVW 法截距为负，这一结果也提示，较高的酪氨酸水平可能与男性不育症的风险降低相关，支持了酪氨酸在男性生殖健康中的潜在保护作用。

相对而言，MR-Egger 回归的结果显示 OR 为 0.843 (95% CI: -1.110~-0.768)，但未达到统计显著性。加权中位数法的分析结果显示 OR 为 0.644 (95% CI: -1.202~0.321)，同样未显著。加权平均法的结果显示 OR 为 0.676 (95% CI: -1.203~0.421)，结果亦未显著，而简单线性回归分析的结果显示 OR 为 0.560 (95% CI: -2.054~0.893)，且 P 值也未达到显著。因此，只有 IVW 法的分析结果显示酪氨酸水平与男性不育症之间存在显著的因果关系，而其他方法的结果未能提供统计支持。这些发现为未来研究提供了重要线索，建议进一步探讨酪氨酸水平在男性不育症中的潜在作用。

3.2. 敏感性分析

为评估分析结果的稳健性，进行了异质性检验和水平多效性检验。首先，逆方差加权法(IVW)的 Q 统计量为 25.41580，样本数量为 29，P 值为 0.6565034，表明在 IVW 方法下未发现显著的异质性。同时如图 2 所示，所选工具变量在影响男性不育症的结果时具有一致性，从而增强了 IVW 分析结果的可信度。

其次，水平多效性检验结果显示，Egger 截距的效应估计为-0.02966833，标准误为 0.02322183，P 值为 0.2118803。该 P 值大于 0.05，表明未发现显著的多效性。这意味着所选工具变量不太可能同时影响暴露和结果，从而进一步支持了 MR 分析中 IVW 结果的有效性。图 3 逐个剔除检验显示去除任意 SNP 后结果比较稳定。

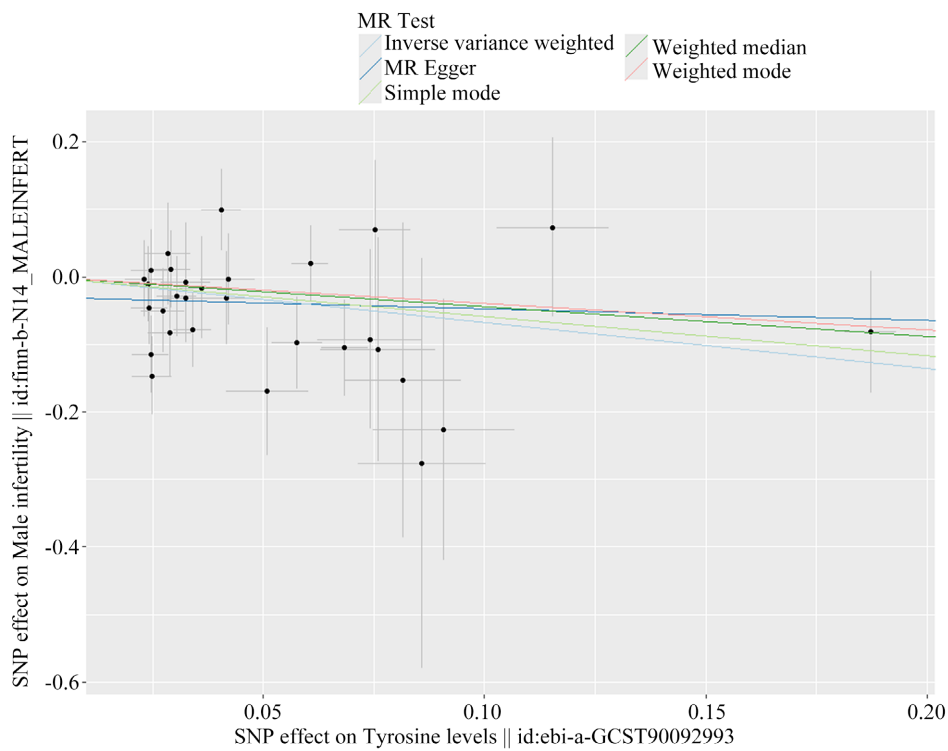


Figure 1. Scatter plot of MR analysis

图 1. MR 分析散点图

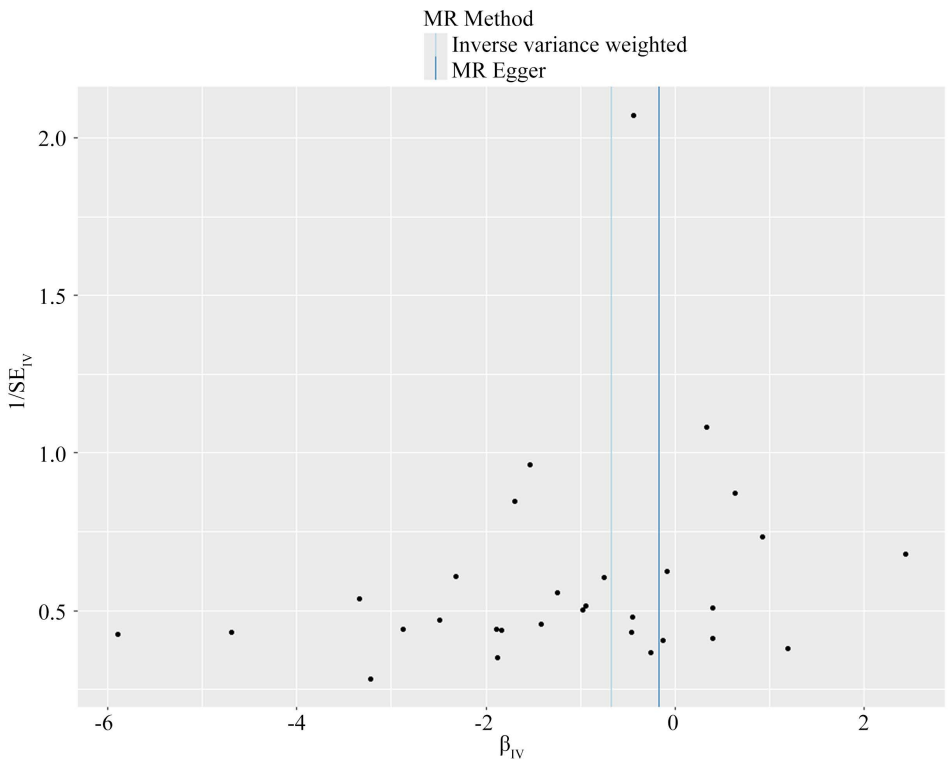


Figure 2. Funnel plot of MR analysis

图 2. MR 分析漏斗图

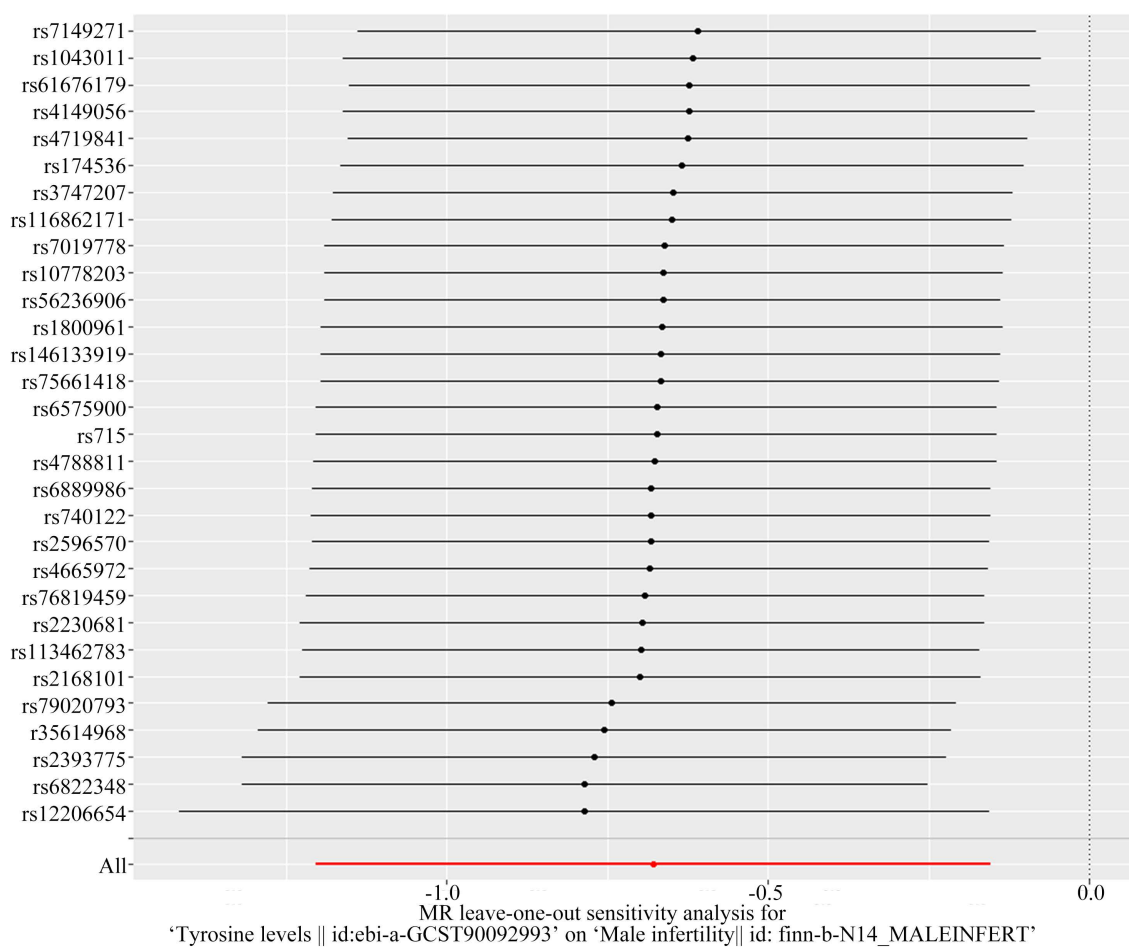


Figure 3. Leave-one-out plot of MR analysis
图 3. MR 分析留一法图

4. 讨论

这一发现与现有文献相一致，支持了酪氨酸作为一种可能的生物标志物，在男性生殖健康中的作用。酪氨酸作为一种重要的氨基酸，参与神经递质的合成及能量代谢[19]，可能通过改善生殖激素水平和精子质量影响生育能力[20]。此外，酪氨酸的抗氧化特性也可能在减轻氧化应激、保护生殖细胞方面发挥作用[21]。尽管本研究的结果提供了重要的临床启示，但仍存在一些局限性。首先，本研究使用的 GWAS 数据来源于特定人群，可能会影响结果的外部效度。其次，虽然使用了多种方法进行敏感性分析，但仍需考虑潜在的多效性和混杂因素。此外，因果推断的复杂性需要通过更大规模和多样化的样本进行进一步验证。未来的研究应进一步探讨酪氨酸的作用机制，考虑其在不同人群中的生物学效应。此外，临床试验将有助于验证酪氨酸干预对男性不育症的影响，为临床实践提供更有力的证据。

总之，本研究通过系统的分析方法，初步证实了酪氨酸水平与男性不育症之间的潜在因果关系，为未来的研究提供了基础。随着对酪氨酸在男性生殖健康中角色的深入理解，可能会为不育症的预防和治疗提供新的策略。

5. 结论

本研究通过双样本孟德尔随机化分析，初步证实了酪氨酸水平与男性不育症之间存在显著的因果关

系。结果显示, 较高的酪氨酸水平可能与降低男性不育症的风险相关, 提示酪氨酸在男性生殖健康中可能发挥重要作用。这一发现为未来的研究提供了基础, 并强调了进一步探讨酪氨酸在不育症预防和治疗中的潜在应用的必要性。

尽管本研究存在一些局限性, 但其结果为理解酪氨酸对男性生殖健康的影响提供了重要的见解, 可能为临床实践和公共卫生政策的制定提供参考。

参考文献

- [1] Eisenberg, M.L., Esteves, S.C., Lamb, D.J., Hotaling, J.M., Giwercman, A., Hwang, K., *et al.* (2023) Male Infertility. *Nature Reviews Disease Primers*, **9**, Article No. 49. <https://doi.org/10.1038/s41572-023-00459-w>
- [2] Service, C.A., Puri, D., Al Azzawi, S., Hsieh, T. and Patel, D.P. (2023) The Impact of Obesity and Metabolic Health on Male Fertility: A Systematic Review. *Fertility and Sterility*, **120**, 1098-1111. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2023.10.017>
- [3] Hunter, T. (2014) The Genesis of Tyrosine Phosphorylation. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, **6**, a020644. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a020644>
- [4] Anonymous (1974) Tyrosine Metabolism and Toxicity. *Nutrition Reviews*, **32**, 219-220. <https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.1974.tb00968.x>
- [5] Seshagiri, P.B., Mariappa, D. and Aladakatti, R.H. (2007) Tyrosine Phosphorylated Proteins in Mammalian Spermatozoa: Molecular and Functional Aspects. *Society of Reproduction and Fertility Supplement*, **63**, 313-325.
- [6] González-Fernández, L., Macías-García, B., Velez, I.C., Varner, D.D. and Hinrichs, K. (2012) Calcium-Calmodulin and pH Regulate Protein Tyrosine Phosphorylation in Stallion Sperm. *Reproduction*, **144**, 411-422. <https://doi.org/10.1530/rep-12-0067>
- [7] Buffone, M.G., Calamera, J.C., Verstraeten, S.V. and Doncel, G.F. (2005) Capacitation-Associated Protein Tyrosine Phosphorylation and Membrane Fluidity Changes Are Impaired in the Spermatozoa of Asthenozoospermic Patients. *Reproduction*, **129**, 697-705. <https://doi.org/10.1530/rep.1.00584>
- [8] Gmochinski, I.V., Shipelin, V.A., Trusov, N.V., Apryatin, S.A., Mzhelskaya, K.V., Shumakova, A.A., *et al.* (2021) Effects of Tyrosine and Tryptophan Supplements on the Vital Indicators in Mice Differently Prone to Diet-Induced Obesity. *International Journal of Molecular Sciences*, **22**, Article 5956. <https://doi.org/10.3390/ijms22115956>
- [9] Shipelin, V.A., Trusov, N.V., Apryatin, S.A., Shumakova, A.A., Balakina, A.S., Riger, N.A., *et al.* (2021) Effects of Tyrosine and Tryptophan in Rats with Diet-Induced Obesity. *International Journal of Molecular Sciences*, **22**, Article 2429. <https://doi.org/10.3390/ijms22052429>
- [10] Kim, K.Y., Kim, M.S., Lee, Y.J., Lee, Y.A., Lee, S.Y., Shin, C.H., *et al.* (2022) Glutamic Acid Decarboxylase and Tyrosine Phosphatase-Related Islet Antigen-2 Positivity among Children and Adolescents with Diabetes in Korea. *Diabetes & Metabolism Journal*, **46**, 948-952. <https://doi.org/10.4093/dmj.2021.0332>
- [11] Li, J., Cao, Y., Sun, X., Han, L., Li, S., Gu, W., *et al.* (2018) Plasma Tyrosine and Its Interaction with Low High-Density Lipoprotein Cholesterol and the Risk of Type 2 Diabetes Mellitus in Chinese. *Journal of Diabetes Investigation*, **10**, 491-498. <https://doi.org/10.1111/jdi.12898>
- [12] Hussain, M., Ikram, W. and Ikram, U. (2023) Role of c-Src and Reactive Oxygen Species in Cardiovascular Diseases. *Molecular Genetics and Genomics*, **298**, 315-328. <https://doi.org/10.1007/s00438-023-01992-9>
- [13] Nemet, I., Li, X.S., Haghikia, A., Li, L., Wilcox, J., Romano, K.A., *et al.* (2023) Atlas of Gut Microbe-Derived Products from Aromatic Amino Acids and Risk of Cardiovascular Morbidity and Mortality. *European Heart Journal*, **44**, 3085-3096. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehad333>
- [14] Jiang, M., Zhao, X., Jiang, Z., Wang, G. and Zhang, D. (2022) Protein Tyrosine Nitration in Atherosclerotic Endothelial Dysfunction. *Clinica Chimica Acta*, **529**, 34-41. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2022.02.004>
- [15] Davey Smith, G. and Ebrahim, S. (2003) 'Mendelian Randomization': Can Genetic Epidemiology Contribute to Understanding Environmental Determinants of Disease? *International Journal of Epidemiology*, **32**, 1-22. <https://doi.org/10.1093/ije/dyg070>
- [16] Lawlor, D.A., Harbord, R.M., Sterne, J.A.C., Timpson, N. and Davey Smith, G. (2008) Mendelian Randomization: Using Genes as Instruments for Making Causal Inferences in Epidemiology. *Statistics in Medicine*, **27**, 1133-1163. <https://doi.org/10.1002/sim.3034>
- [17] Porcu, E., Rüeger, S., Lepik, K., Agbessi, M., Ahsan, H., Alves, I., *et al.* (2019) Mendelian Randomization Integrating GWAS and eQTL Data Reveals Genetic Determinants of Complex and Clinical Traits. *Nature Communications*, **10**, Article No. 330. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-10936-0>

-
- [18] Zheng, J., Baird, D., Borges, M., Bowden, J., Hemani, G., Haycock, P., *et al.* (2017) Recent Developments in Mendelian Randomization Studies. *Current Epidemiology Reports*, **4**, 330-345. <https://doi.org/10.1007/s40471-017-0128-6>
 - [19] Hase, A., Jung, S.E. and aan het Rot, M. (2015) Behavioral and Cognitive Effects of Tyrosine Intake in Healthy Human Adults. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, **133**, 1-6. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2015.03.008>
 - [20] Buffone, M.G. (2004) Human Sperm Subpopulations: Relationship between Functional Quality and Protein Tyrosine Phosphorylation. *Human Reproduction*, **19**, 139-146. <https://doi.org/10.1093/humrep/deh040>
 - [21] Katoh, Y., Takebayashi, K., Kikuchi, A., Iki, A., Kikuchi, K., Tamba, M., *et al.* (2014) Porcine Sperm Capacitation Involves Tyrosine Phosphorylation and Activation of Aldose Reductase. *Reproduction*, **148**, 389-401. <https://doi.org/10.1530/rep-14-0199>