

孟德尔随机化在神经病学研究中的应用进展

吴 含, 李长清*

重庆医科大学附属第二医院神经内科, 重庆

收稿日期: 2024年6月11日; 录用日期: 2024年7月4日; 发布日期: 2024年7月12日

摘 要

孟德尔随机化(Mendelian randomization, MR)利用遗传信息进行因果推断。近年来, 随着与脑组织基因表达、脑成像及神经系统疾病等表型相关的大规模公共遗传关联数据的扩展, 孟德尔随机化被广泛应用于神经病学领域的研究当中。本文将围绕孟德尔随机化的基本原理和局限性以及它在神经病学领域中的多种应用进行综述。另外, 本文还提供了孟德尔随机化分析的部分案例, 它们不仅解决了某些长期存在的流行病学争议、为探寻神经系统疾病的病理生理学机制提供了独特方法, 还为筛选潜在药物靶点及拓展药物新适应症提供了路径。随着全基因组关联研究(GWAS)数据的不断增加, 孟德尔随机化必将极大推动神经病学领域的研究进展, 该领域相关人员有必要熟悉此研究方法。

关键词

孟德尔随机化, 缺血性脑卒中, 帕金森病, 阿尔茨海默病, 药物靶点

Advances in the Application of Mendelian Randomization in Neurological Research

Han Wu, Changqing Li*

Department of Cardiology, The Second Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing

Received: Jun. 11th, 2024; accepted: Jul. 4th, 2024; published: Jul. 12th, 2024

Abstract

Mendelian randomization (MR) utilizes genetic information for causal inference. In recent years, with the expansion of large-scale public genetic association data related to phenotypes such as brain tissue gene expression, brain imaging, and neurological diseases, Mendelian randomization has been widely applied in the field of neurology research. This article will review the basic principles

*通讯作者。

and limitations of Mendelian randomization, as well as its various applications in the field of neurology. In addition, this article also provides some cases of Mendelian randomization analysis, which not only solves some long-standing epidemiological controversies and provides a unique method for exploring the pathophysiological mechanisms of neurological diseases, but also provides a pathway for screening potential drug targets and expanding new drug indications. With the continuous increase of genome-wide association studies (GWAS) data, Mendelian randomization will greatly promote research progress in the field of neurology, and it is necessary for relevant personnel in this field to be familiar with this research method.

Keywords

Mendelian Randomization, Ischemic Stroke, Parkinson's Disease, Alzheimer's Disease, Drug Targets

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. 引言

自 2003 年“孟德尔随机化”(MR)一词流行以来[1],有关 MR 的理论和应用研究数量呈爆炸式增长。“遗传密码的破解正在改变流行病学”[2]的观念日益流行,其合理性依赖于三大核心属性。首先,MR 提供了使用公共遗传数据解决因果问题的机会。其次,它的成功应用解决了众多临床问题,例如维生素 D 水平与多种慢性疾病的关系、精神障碍对神经退行性病变的影响及卒中的多种病因或危险因素等。第三,MR 为挑选新的药物靶点提供了思路,亦可适用于部分神经疾病。尽管目前 MR 在方法学上有了相当大的进步,但其应用仍存在局限性。本文将介绍 MR 的研究方法、提供其在神经病学领域的应用案例以及讨论其局限性影响。

2. MR 的介绍

流行病学(epidemiology)是研究疾病、健康状况的时空人群分布及其相关影响因素,并以相应举措降低发病率,促进人类健康的一门科学[3]。其常用研究方法包括横断面研究、病例对照研究、队列研究等传统的观察性研究及随机对照实验。然而,传统的观察性研究难以避免混杂偏倚(Confounding bias)和因果时序混淆的干扰[4]。当观察到的暴露与结果之间的有效因果关联是由于结果对暴露产生的因果效应时就出现了反向因果偏倚。相反,当因果关联可以由暴露或结果以外的其他因素所解释时就出现了混杂偏倚。

随机对照实验(Randomized controlled trials, RCT)是评价因果关系的金标准[5]。尽管 RCT 可以通过严格的实验设计有效避免反向因果关系及较好的控制混杂因素影响,其高昂的费用、繁琐的实施过程使得研究者在实际工作中往往难以开展。

孟德尔随机化是近年兴起的一种流行病学方法,旨在克服以上研究的局限性,从观察数据中得出因果推论。孟德尔随机化法引用了计量经济学中工具变量(Instrumental variables, IVs)的概念[6],通过利用长期暴露产生的遗传变异作为反映暴露因素的工具变量(通常是单核苷酸多态性)建立模型,进而推断暴露(如低密度脂蛋白胆固醇)和结局(如缺血性卒中)之间的因果关系[7]。由于遗传变异与暴露因素的关系在受孕时就已确定,因此不随疾病的发展而改变,排除了反向因果问题;其次,遗传变异在受孕时是随机发

生的,理论上不会受到环境和生活方式等混杂因素的影响[8]。例如,患者成年后的体重指数不会影响其体内任何基因位点上携带的遗传变异。

1986年,Katan首次提出了MR理论,它建立在孟德尔分离定律的基础上,即“配子形成过程中,亲代等位基因随机分配给子代”,这个过程相当于RCT研究中的随机分组[9]。近年来,通过全基因组关联研究,检测数百万个遗传变异与疾病或风险因素的相关性,发现了大量与人类疾病或风险因素相关的遗传变异。在一些大型生物库(如英国生物银行UK Biobank, FINNGEN等)中,可以获取与这些疾病或风险因素相关的单核苷酸多态性(SNPs)信息。然后,利用这些SNPs作为工具变量,有针对性地进行孟德尔随机化研究。

孟德尔随机化研究为了得出有效的因果推论,必须满足3个核心假设[10]:(1)IVs与暴露因素存在显著关联;(2)IVs与任何潜在的混杂因素无关;(3)IVs与结局不直接相关,它对结局因素的效应只通过暴露来传递。第一个假设通过选择与暴露因素强相关的遗传变异来解决;而后两个假设易被遗传多效应所违反,即单个基因位点常影响到多个性状,这意味着遗传变异位点可通过暴露之外的其他路径影响结局。由于当前的生物学研究尚未能全面揭示暴露因素和研究结局的所有代谢过程和相关通路信息,因此难以验证孟德尔随机化研究不受多效应性的影响。不过目前已经开发了多种方法来检验多效应性。例如,在以加权中位数作为孟德尔随机化的主要分析方法来评估暴露和结局之间的因果关系时,MR-Egger、加权中值(Weighted median)、加权模式(Weighted mode)以及多效应性残差和异常值(MR-PRESSO)常被用作加权中位数方法的补充,以进行孟德尔随机化研究结果的敏感性分析,验证结果是否有因所选择的工具变量的多效应性而产生的偏倚[11]-[14]。

孟德尔随机化研究中最关键的设计环节是工具变量(即SNP)的筛选。其筛选方法之一是依据已知的生物学知识从与暴露相关的基因组区域中选择SNP。此法可排除多效应性影响,但往往只能得到较少的SNP,使得部分敏感性分析难以进行。目前更为常用的方法是依据统计学原则先挑选出所有与暴露具有较强关联的SNP(通常使用低于全基因组显著阈值 5×10^{-8} 的p值),无论其生物学功能是否明确,然后去除共同遗传的SNP(即连锁不平衡)。尽管此法通过选取更多的SNP有力的提高了统计效能,但难以避免由无效的或具有水平多效应性的SNP引起的偏倚[15]。

孟德尔随机化研究可以在单一人群中开展,即单样本MR,该方法由于遗传变异信息的暴露和结局来自同一人群而具有同质性的优势[16]。近年来,孟德尔随机化研究多在不同人群中开展,即双样本MR,这具有更大的统计功效,且可以通过提高工具变量强度来降低由样本重叠引起的偏倚[17][18]。另外,为了避免群体分层造成的异质性问题引起偏倚,我们通常选择具有相似遗传背景的人群进行研究。除此之外,我们还探索了其他形式的MR研究,如:双向MR研究评估了暴露和结局之间的正向和反向因果关系,即暴露是否导致结局,反之亦然。这需要进行两次孟德尔随机化研究[18]。两步MR研究考察了中介变量是否在暴露和结局之间起到介导作用,这有助于揭示潜在的机制[18][19]。多变量MR研究通常涉及两个以上相关的暴露因素,如高密度脂蛋白、低密度脂蛋白、甘油三酯和载脂蛋白B等。该方法能够在考虑多种暴露因素的情况下,确定单个因素在矫正其他因素影响后是否与结局存在因果关系[18][19]。不同形式的研究方法使得MR研究在疾病特别是病因的探索中得到越来越广泛的应用。

3. 药-靶MR研究

在将一种新药推向市场动辄花费数亿美元,这主要是因为药物研发的高失败率。超过90%的药物即使在临床前研究及早期临床实验中取得较好结果,最终因未在人体中展现出预期治疗效果而被终止研发,这也突显了动物模型研究较差的临床转化能力[20][21]。MR研究可有效加快药物研发流程并极大降低成本。与大规模随机对照实验(RCTs)相比,MR研究不仅成本较低,而且帮助挑选优先进行RCT研究的潜

在药物靶点[22]。药-靶 MR 研究依赖于 cis-MR 方法, 其遗传 IVs 来自目标靶点的基因组区域。在疗效上, MR 可以推断目标靶点与某种疾病或健康状况的因果关系。另外, 药-靶 MR 可以利用药物靶点的遗传预测因子来寻找药物的新适应症, 从而为药物重新利用提供机会[22]。最后, 通过个体化信息, 可以使用 MR 测试两种药物靶点之间的相互作用, 类似于 2×2 因子随机对照试验。

4. MR 在神经病学中的应用

近年来, 孟德尔随机化已被广泛应用于解决神经病学各个亚专业领域的临床问题。由于许多神经系统疾病(如阿尔茨海默病、痴呆症等)缓慢的临床进展使得相关大型临床试验难以开展, 通过孟德尔随机化对神经系统疾病病理生理、病因及危险因素和潜在药物靶点的研究就显得格外重要。本文重点介绍了孟德尔随机化在神经病学几个亚专业领域中的应用案例。

4.1. 缺血性脑卒中

由于大型临床实验并没有将缺血性脑卒中细分为病因亚型, 长久以来我们对于卒中亚型的探讨甚微。随着缺血性脑卒中亚型相关的全基因组关联研究(GWAS)数据逐渐增多[23], 如今孟德尔随机化提供了一条探究缺血性脑卒中亚型的病因及危险因素的路径。例如, Hind 等[24]利用孟德尔随机化研究发现高遗传性的低密度脂蛋白胆固醇与大动脉粥样硬化性卒中风险增加有关, 而与心源性卒中或小血管卒中的风险增加无关。由于最大规模的他汀类药物治疗中风的临床实验并没有区分卒中的病因亚型且排除了心源性卒中病例[25], 此研究填补了这一部分临床知识的空缺。

在筛选药物靶点方面, 孟德尔随机化研究在大规模随机对照试验(RCT)进行后通过回顾性的方式肯定了遗传预测的血压[26]和胆固醇[24]水平降低可以有效预防卒中。例如, Georgakis 等[26]通过孟德尔随机化研究发现基因预测的钙通道阻滞剂介导的降压效果显著降低了缺血性卒中风险, 而基因预测的 β 受体阻滞剂介导的降压效果与缺血性卒中风险无关。目前高血压治疗的临床指南亦不推荐使用 β 受体阻滞剂作为降压治疗的一线用药方案, 因为它们对于降低缺血性卒中风险无益[27]。

Chignon 等[28]利用孟德尔随机化发现遗传预测的白细胞介素(IL)-6 信号水平升高与大动脉粥样硬化性卒中和小血管卒中风险增加有明确的因果关系, 这进一步支持了优先把 IL-6 信号作为缺血性脑卒中药物干预靶点的合理性。不过, Robins 等[29]利用孟德尔随机化研究发现基因下调的 IL-6 水平对大动脉粥样硬化性卒中的影响可能有 67%是通过降低循环 CXCL10 水平介导, 这提示 CXCL10 可能在其中起到中介作用, 而更有希望成为有效的药物靶点。最后, 孟德尔随机化研究还为预防卒中提供了一种新的药物靶点: 凝血因子 XI (FXI)。Gill 等[30]通过孟德尔随机化研究发现基因预测的 FXI 循环水平的升高与缺血性卒中尤其是心源性栓塞性卒中风险增加相关, 但不会增加颅内出血的风险, 这提示 FXI 抑制途径可能比目前其他抗凝剂(如凝血因子 Xa 抑制剂)更加安全有效[31] [32]。孟德尔随机化也被应用于脑出血和蛛网膜下腔出血的研究, 这些研究在它处已被详细总结并讨论, 在此将不做展开[33]。

4.2. 阿尔茨海默病(AD)

在研究神经系统疾病(如 AD)的病理生理学机制时往往很难获取到所需要量的脑组织, 如今, 我们可以利用新发表的有关大脑中蛋白质水平的 GWAS 数据详细评估神经系统疾病的病理生理状况。例如, Robins 等[29]通过液相色谱-质谱联用技术对 330 名已故脑供体的额叶前部皮质中的 8356 种蛋白质进行了全基因组关联研究(GWAS), 并利用得到的 GWAS 数据开展了全脑蛋白组水平的孟德尔随机化研究, 最终确定出 13 个调节大脑中蛋白质丰度的基因与 AD 相关[34]。Yand 等同样利用核酸适配体对脑脊液($n = 971$)和顶叶皮层($n = 458$)中的 1305 种蛋白质水平进行了 GWAS, 然后通过孟德尔随机化研究确定了与 AD 相关的 3 种脑脊液蛋白以及 7 种顶叶皮层蛋白。

4.3. 帕金森病(PD)

孟德尔随机化研究在 PD 的病因与危险因素探索中成果斐然。例如, 以往观察性研究发现血清维生素 D 和尿酸水平与 PD 风险呈负相关, 而 Kia 等[35]的孟德尔随机化研究否认了这两种血清标志物与 PD 存在因果关系, 这表明观察性研究可能受到了混杂或反向因果关系的影响[36]。孟德尔随机化研究也可用于识别 PD 的新危险因素, 例如血清 α -L-异硫酸葡萄糖苷酶(IDUA)水平。Yang 等[37]通过对患有或不患 PD 人群的血清、脑脊液和脑组织的大量蛋白质进行 GWAS 分析, 发现 IDUA 和其他 34 种蛋白质与 PD 可能存在因果关系, IDUA 负责在溶酶体中降解糖氨聚糖, 而溶酶体被认为至少与帕金森病的单基因形式有关。

4.4. 多发性硬化(MS)

孟德尔随机化研究已被用于解决与多发性硬化(MS)相关的长期流行病学争议。例如, Jacobs 等利用两样本孟德尔随机化研究并没有得出基因预测的维生素 D 水平升高与多发性硬化(MS)风险降低有关的稳定结果, 而显示肥胖尤其是儿童期肥胖与多发性硬化(MS)风险增加有关且随着生命周期的不同而变化[38]。不过并无 MR 分析的证据支持以上两种危险因素对 MS 的严重程度有影响[39]。在药物重新利用方面, Vandebergh 等[40]利用两样本孟德尔随机化研究明确了 IL-6 信号传导是 MS 的潜在危险因素, 通过随后的中介分析显示 IL-6 信号传导的改变可以解释 40%以上体重指数对 MS 风险的影响。以上案例都体现出孟德尔随机化既能为探寻疾病发生机制提供方法, 又能发现新的疾病危险因素和药物靶点。

4.5. 偏头痛

偏头痛是一种常见的致残性神经系统疾病, 其发病机制尚不清楚。以往观察性研究常将睡眠不足与偏头痛相联系[41], 但无肯定结论, Daghlis 等[42]通过孟德尔随机化研究明确了失眠和觉醒困难与偏头痛的因果关系, 这也提示了在治疗偏头痛的同时治疗睡眠障碍的重要性。另外, Guo 等[43]通过孟德尔随机化研究发现多种血清凝血因子水平与偏头痛风险有明确的因果关系, 这不仅提示微栓子可能是偏头痛病因之一, 并可帮助筛选出优先作为潜在药物靶点的凝血因子。

以上经典案例显示了孟德尔随机化在神经病学各个亚专业领域中的广泛应用。然而, 某些表型的大规模 GWAS 数据的缺乏仍限制了对神经系统疾病的亚型(如先兆性偏头痛)、严重程度(如偏头痛发作频率)以及进展或康复(如中风的运动康复)的进一步研究。随着脑组织(如脑脊液、神经元细胞等)相关 GWAS 数据的增加, MR 研究必将更精确的揭示神经疾病发生机制并预测脑内药物靶点的疗效。

5. MR 研究的局限性

MR 即存在观察性研究中常见的局限性也容易出现违反工具变量假设的情况, 这在其他文章中已进行过详细论述[1][8], 以下我们就其中常见问题展开讨论。在 MR 研究中必须充分并准确定义暴露尤其是二分类暴露(例如, 病例/对照)和结果。与传统流行病学研究直接估计疾病与暴露的关联不同, MR 研究通过估计疾病的遗传易感性(例如, 卒中风险)为暴露效应, 因此二分类暴露的 MR 研究应将结果解释为遗传易感性与目标结果的关联性而非暴露本身的效应。

5.1. 暴露和结果的定义

在 MR 研究中必须充分并准确定义暴露尤其是二分类暴露(例如, 病例/对照)和结果。与传统流行病学研究直接估计疾病与暴露的关联不同, MR 研究通过估计疾病的遗传易感性(例如, 卒中风险)为暴露效应, 因此二分类暴露的 MR 研究应将结果解释为遗传易感性与目标结果的关联性而非暴露本身的效应。

5.2. IVs 的选择

被挑选的工具变量(IVs)应当反映所研究暴露的遗传变异。例如, Zhou 等[44]在一项 MR 研究中通过挑选与血清生长分化因子 15 水平相关的遗传工具来探究二甲双胍的降糖效果,这实际上是在探究血清生长分化因子 15 水平而非二甲双胍本身与血糖水平的因果效应,两者既不等同也不可互换。另外,所选择的工具变量应当尽量减少多效性带来的偏倚。由于暴露因素往往会受到环境或生活方式的影响,挑选的工具变量不可避免的会受到多效性影响。例如, Gill 等[45]在一项有关教育程度的 MR 研究中发现所挑选的遗传工具很可能因与智力相关而存在多效性。不过目前可以通过多变量 MR 来解决这种已知多效性所带来的偏倚。

5.3. 对疾病进展的 MR 研究

旨在探究暴露因素影响疾病进展或康复的 MR 研究中如果暴露因素同时影响疾病发生风险就会出现汇聚偏倚,此偏倚往往存在于对仅基于患者样本的数据集进行分析时[46]。例如,卒中康复相关的 GWAS 汇总数据公布后[47],有学者尝试通过 MR 研究探寻有利于中风康复的潜在干预措施[48],这些研究都有可能因受到汇聚偏倚的影响而出现假阳性结果。然而,目前并没有出现控制汇聚偏倚的有效方法[46]。其次,利用 MR 研究探索疾病进展或康复的影响因素往往具有局限性,包括在神经病学领域中的应用,这主要是由于临床实践中通常是在慢性神经疾病发生后再对其进行管理和治疗,而非从一开始就对疾病的预防抓起。现如今,对于疾病的预防更多的还是依赖于公共卫生与初级医疗保健领域。

5.4. 其他常见的局限性

孟德尔随机化研究中其他常见的局限性包括:① 孟德尔随机化的研究结论可能因为暴露和结果的全基因组关联研究人群的不匹配而导致假阴性或者假阳性的结果,随着未来各大数据库变得更大更多样化时,这将是一个更令人担忧的问题;② 孟德尔随机化经常推测的是长时间暴露对结局的影响,但是单核苷酸多态性的信息是由一个或一组个体在某一时刻被获取的,这意味着所获取的遗传变异信息可能与个体长时间的暴露信息存在差异;③ 孟德尔随机化中的阳性结果更有可能被发表,即使这些结果是由于分析过程中偶然出现的关联而非真正的因果关联,所以在进行 MR 分析之前需要提前进行统计功效的计算,以确保对研究的假设有足够的统计学效应[49]。

5.5. 药-靶 MR 研究的局限性

探寻药物干预靶点的 MR 研究也存在诸多局限性。① 由于药物靶点具有多种作用途径,导致挑选的遗传工具只能反映部分而非全部作用机制介导的效应。② 药-靶 MR 只能研究干预药物靶点所带来的效应,而无法研究某种特定化合物的药理作用。③ 由于 MR 研究反映了遗传预测暴露的终身累积效应,而临床干预往往在较短的时间内进行且会导致暴露水平发生更大程度的波动,所以 MR 研究的结果无法预测在临床实践中对药物靶点进行干预的实际效果[50]。

6. 总结与展望

综上,孟德尔随机化为确定神经系统疾病的潜在危险因素、推动对神经疾病发病机制的理解以及筛选药物干预靶点提供了强大方法,随着脑蛋白水平[29]、脑脊液蛋白水平、脑组织基因表达[51]、脑磁共振成像[52]和脑单细胞基因表达[53]等相关的 GWAS 研究数据的不断公开与发表,孟德尔随机化在揭示神经疾病病理生理机制尤其是罕见疾病方面将更加具有潜力。

尽管孟德尔随机化研究存在一些局限性,但是在今天及可预见的未来,随着数据生成成本的不断降低及孟德尔随机化分析方法的不断完善,它在神经病学领域的研究中必将发挥更多更强大的作用。

参考文献

- [1] 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>
- [2] Adam, D. (2019) The Gene-Based Hack That Is Revolutionizing Epidemiology. *Nature*, **576**, 196-199. <https://doi.org/10.1038/d41586-019-03754-3>
- [3] Frérot, M., Lefebvre, A., Aho, S., Callier, P., Astruc, K. and Aho Glélé, L.S. (2018) What Is Epidemiology? Changing Definitions of Epidemiology 1978-2017. *PLOS ONE*, **13**, e0208442. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0208442>
- [4] Vandenbroucke, J.P. (2004) When Are Observational Studies as Credible as Randomised Trials? *The Lancet*, **363**, 1728-1731. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(04\)16261-2](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(04)16261-2)
- [5] Meldrum, M.L. (2000) A Brief History of the Randomized Controlled Trial. From Oranges and Lemons to the Gold Standard. *Hematology/Oncology Clinics of North America*, **14**, 745-760. [https://doi.org/10.1016/s0889-8588\(05\)70309-9](https://doi.org/10.1016/s0889-8588(05)70309-9)
- [6] Martens, E.P., Pestman, W.R., de Boer, A., Belitser, S.V. and Klungel, O.H. (2006) Instrumental Variables: Application and Limitations. *Epidemiology*, **17**, 260-267. <https://doi.org/10.1097/01.ede.0000215160.88317.cb>
- [7] Davey Smith, G. and Hemani, G. (2014) Mendelian Randomization: Genetic Anchors for Causal Inference in Epidemiological Studies. *Human Molecular Genetics*, **23**, R89-R98. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddu328>
- [8] 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>
- [9] Cheng, Q., Yang, Y., Shi, X., Yeung, K., Yang, C., Peng, H., et al. (2020) MR-LDP: A Two-Sample Mendelian Randomization for GWAS Summary Statistics Accounting for Linkage Disequilibrium and Horizontal Pleiotropy. *NAR Genomics and Bioinformatics*, **2**, lqaa028. <https://doi.org/10.1093/nargab/lqaa028>
- [10] Hemani, G., Zheng, J., Elsworth, B., Wade, K.H., Haberland, V., Baird, D., et al. (2018) The MR-Base Platform Supports Systematic Causal Inference across the Human Phenome. *eLife*, **7**, e34408. <https://doi.org/10.7554/elife.34408>
- [11] Bowden, J., Davey Smith, G. and Burgess, S. (2015) Mendelian Randomization with Invalid Instruments: Effect Estimation and Bias Detection through Egger Regression. *International Journal of Epidemiology*, **44**, 512-525. <https://doi.org/10.1093/ije/dyv080>
- [12] Bowden, J., Davey Smith, G., Haycock, P.C. and Burgess, S. (2016) Consistent Estimation in Mendelian Randomization with Some Invalid Instruments Using a Weighted Median Estimator. *Genetic Epidemiology*, **40**, 304-314. <https://doi.org/10.1002/gepi.21965>
- [13] Dudbridge, F. (2020) Polygenic Mendelian Randomization. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, **11**, a039586. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a039586>
- [14] 徐艺耘, 刘振球, 樊虹, 等. MR-Egger 回归在孟德尔随机化分析中的应用[J]. 复旦学报(医学版), 2021, 48(6): 804-809.
- [15] Burgess, S., Davey Smith, G., Davies, N.M., Dudbridge, F., Gill, D., Glymour, M.M., et al. (2019) Guidelines for Performing Mendelian Randomization Investigations. *Wellcome Open Research*, **4**, 186. <https://doi.org/10.12688/wellcomeopenres.15555.1>
- [16] Chen, L.G., Tubbs, J.D., Liu, Z., Thach, T. and Sham, P.C. (2024) Mendelian Randomization: Causal Inference Leveraging Genetic Data. *Psychological Medicine*, **54**, 1461-1474. <https://doi.org/10.1017/s0033291724000321>
- [17] Burgess, S., Davies, N.M. and Thompson, S.G. (2016) Bias Due to Participant Overlap in Two-Sample Mendelian Randomization. *Genetic Epidemiology*, **40**, 597-608. <https://doi.org/10.1002/gepi.21998>
- [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] Sanderson, E. (2020) Multivariable Mendelian Randomization and Mediation. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, **11**, a038984. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a038984>
- [20] Sun, D., Gao, W., Hu, H. and Zhou, S. (2022) Why 90% of Clinical Drug Development Fails and How to Improve It? *Acta Pharmaceutica Sinica B*, **12**, 3049-3062. <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2022.02.002>
- [21] Dowden, H. and Munro, J. (2019) Trends in Clinical Success Rates and Therapeutic Focus. *Nature Reviews Drug Discovery*, **18**, 495-496. <https://doi.org/10.1038/d41573-019-00074-z>
- [22] Burgess, S., Mason, A.M., Grant, A.J., Slob, E.A.W., Gkatzionis, A., Zuber, V., et al. (2023) Using Genetic Association Data to Guide Drug Discovery and Development: Review of Methods and Applications. *The American Journal of Human Genetics*, **110**, 195-214. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2022.12.017>

- [23] Mishra, A., Malik, R., Hachiya, T., Jürgenson, T., Namba, S., Posner, D.C., *et al.* (2022) Stroke Genetics Informs Drug Discovery and Risk Prediction across Ancestries. *Nature*, **611**, 115-123. <https://doi.org/10.1038/s41586-022-05165-3>
- [24] Hindy, G., Engström, G., Larsson, S.C., Traylor, M., Markus, H.S., Melander, O., *et al.* (2018) Role of Blood Lipids in the Development of Ischemic Stroke and Its Subtypes: A Mendelian Randomization Study. *Stroke*, **49**, 820-827. <https://doi.org/10.1161/strokeaha.117.019653>
- [25] Karam, J.G., Loney-Hutchinson, L. and McFarlane, S.I. (2008) High-Dose Atorvastatin after Stroke or Transient Ischemic Attack: The Stroke Prevention by Aggressive Reduction in Cholesterol Levels (SPARCL) Investigators. *Journal of the CardioMetabolic Syndrome*, **3**, 68-69. <https://doi.org/10.1111/j.1559-4572.2008.07967.x>
- [26] Georgakis, M.K., Gill, D., Webb, A.J.S., Evangelou, E., Elliott, P., Sudlow, C.L.M., *et al.* (2020) Genetically Determined Blood Pressure, Antihypertensive Drug Classes, and Risk of Stroke Subtypes. *Neurology*, **95**, e353-e361. <https://doi.org/10.1212/wnl.00000000000009814>
- [27] Whelton, P.K., Carey, R.M., Aronow, W.S., *et al.* (2017) ACC/AHA/AAPA/ABC/ACPM/AGS/APhA/ASH/ASPC/NMA/PCNA Guideline for the Prevention, Detection, Evaluation, and Management of High Blood Pressure in Adults: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines. *Hypertension (Dallas, Tex.: 1979)*, **71**, e13-e115.
- [28] Chignon, A., Bon-Baret, V., Boulanger, M., Li, Z., Argaud, D., Bossé, Y., *et al.* (2020) Single-Cell Expression and Mendelian Randomization Analyses Identify Blood Genes Associated with Lifespan and Chronic Diseases. *Communications Biology*, **3**, Article No. 206. <https://doi.org/10.1038/s42003-020-0937-x>
- [29] Robins, C., Liu, Y., Fan, W., Duong, D.M., Meigs, J., Harerimana, N.V., *et al.* (2021) Genetic Control of the Human Brain Proteome. *The American Journal of Human Genetics*, **108**, 400-410. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2021.01.012>
- [30] Gill, D., Georgakis, M.K., Laffan, M., Sabater-Lleal, M., Malik, R., Tzoulaki, I., *et al.* (2018) Genetically Determined FXI (Factor XI) Levels and Risk of Stroke. *Stroke*, **49**, 2761-2763. <https://doi.org/10.1161/strokeaha.118.022792>
- [31] Daghlas, I. and Gill, D. (2023) Leveraging Genetic Predictors of Factor XI Levels to Anticipate Results from Clinical Trials. *European Journal of Neurology*, **30**, 2112-2116. <https://doi.org/10.1111/ene.15820>
- [32] Georgi, B., Mielke, J., Chaffin, M., Khera, A.V., Gelis, L., Mundl, H., *et al.* (2019) Leveraging Human Genetics to Estimate Clinical Risk Reductions Achievable by Inhibiting Factor XI. *Stroke*, **50**, 3004-3012. <https://doi.org/10.1161/strokeaha.119.026545>
- [33] Georgakis, M.K. and Gill, D. (2021) Mendelian Randomization Studies in Stroke: Exploration of Risk Factors and Drug Targets with Human Genetic Data. *Stroke*, **52**, 2992-3003. <https://doi.org/10.1161/strokeaha.120.032617>
- [34] Wingo, A.P., Liu, Y., Gerasimov, E.S., Gockley, J., Logsdon, B.A., Duong, D.M., *et al.* (2021) Integrating Human Brain Proteomes with Genome-Wide Association Data Implicates New Proteins in Alzheimer's Disease Pathogenesis. *Nature Genetics*, **53**, 143-146. <https://doi.org/10.1038/s41588-020-00773-z>
- [35] Kia, D.A., Noyce, A.J., White, J., Speed, D., Nicolas, A., Burgess, S., *et al.* (2018) Mendelian Randomization Study Shows No Causal Relationship between Circulating Urate Levels and Parkinson's Disease. *Annals of Neurology*, **84**, 191-199. <https://doi.org/10.1002/ana.25294>
- [36] Larsson, S.C., Singleton, A.B., Nalls, M.A. and Richards, J.B. (2017) No Clear Support for a Role for Vitamin D in Parkinson's Disease: A Mendelian Randomization Study. *Movement Disorders*, **32**, 1249-1252. <https://doi.org/10.1002/mds.27069>
- [37] Yang, C., Farias, F.H.G., Ibanez, L., Suhy, A., Sadler, B., Fernandez, M.V., *et al.* (2021) Genomic Atlas of the Proteome from Brain, CSF and Plasma Prioritizes Proteins Implicated in Neurological Disorders. *Nature Neuroscience*, **24**, 1302-1312. <https://doi.org/10.1038/s41593-021-00886-6>
- [38] Jacobs, B.M., Noyce, A.J., Giovannoni, G. and Dobson, R. (2020) BMI and Low Vitamin D Are Causal Factors for Multiple Sclerosis. *Neurology Neuroimmunology & Neuroinflammation*, **7**, e662. <https://doi.org/10.1212/nxi.0000000000000662>
- [39] International Multiple Sclerosis Genetics Consortium, Multiplems Consortium (2023) Locus for Severity Implicates CNS Resilience in Progression of Multiple Sclerosis. *Nature*, **619**, 323-331.
- [40] Vandebergh, M., Becelaere, S., Dubois, B. and Goris, A. (2022) Body Mass Index, Interleukin-6 Signaling and Multiple Sclerosis: A Mendelian Randomization Study. *Frontiers in Immunology*, **13**, Article ID: 834644. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.834644>
- [41] Vgontzas, A. and Pavlović, J.M. (2018) Sleep Disorders and Migraine: Review of Literature and Potential Pathophysiology Mechanisms. *Headache: The Journal of Head and Face Pain*, **58**, 1030-1039. <https://doi.org/10.1111/head.13358>
- [42] Daghlas, I., Vgontzas, A., Guo, Y., Chasman, D.I. and Saxena, R. (2020) Habitual Sleep Disturbances and Migraine: A Mendelian Randomization Study. *Annals of Clinical and Translational Neurology*, **7**, 2370-2380. <https://doi.org/10.1002/acn3.51228>

- [43] Guo, Y., Rist, P.M., Sabater-Lleal, M., de Vries, P., Smith, N., Ridker, P.M., *et al.* (2021) Association between Hemostatic Profile and Migraine: A Mendelian Randomization Analysis. *Neurology*, **96**, e2481-e2487. <https://doi.org/10.1212/wnl.00000000000011931>
- [44] Zhou, H., Shen, J., Fang, W., Liu, J., Zhang, Y., Huang, Y., *et al.* (2019) Mendelian Randomization Study Showed No Causality between Metformin Use and Lung Cancer Risk. *International Journal of Epidemiology*, **49**, 1406-1407. <https://doi.org/10.1093/ije/dyz218>
- [45] Gill, D., Efstathiadou, A., Cawood, K., Tzoulaki, I. and Dehghan, A. (2019) Education Protects against Coronary Heart Disease and Stroke Independently of Cognitive Function: Evidence from Mendelian Randomization. *International Journal of Epidemiology*, **48**, 1468-1477. <https://doi.org/10.1093/ije/dyz200>
- [46] Mitchell, R.E., Hartley, A.E., Walker, V.M., Gkatzionis, A., Yarmolinsky, J., Bell, J.A., *et al.* (2023) Strategies to Investigate and Mitigate Collider Bias in Genetic and Mendelian Randomisation Studies of Disease Progression. *PLOS Genetics*, **19**, e1010596. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1010596>
- [47] Söderholm, M., Pedersen, A., Lorentzen, E., Stanne, T.M., Bevan, S., Olsson, M., *et al.* (2019) Genome-Wide Association Meta-Analysis of Functional Outcome after Ischemic Stroke. *Neurology*, **92**, e1271-e1283. <https://doi.org/10.1212/wnl.00000000000007138>
- [48] Gill, D., James, N.E., Monori, G., Lorentzen, E., Fernandez-Cadenas, I., Lemmens, R., *et al.* (2019) Genetically Determined Risk of Depression and Functional Outcome after Ischemic Stroke. *Stroke*, **50**, 2219-2222. <https://doi.org/10.1161/strokeaha.119.026089>
- [49] Brion, M.A., Shakhbuzov, K. and Visscher, P.M. (2012) Calculating Statistical Power in Mendelian Randomization Studies. *International Journal of Epidemiology*, **42**, 1497-1501. <https://doi.org/10.1093/ije/dyt179>
- [50] Gill, D., Georgakis, M.K., Walker, V.M., Schmidt, A.F., Gkatzionis, A., Freitag, D.F., *et al.* (2021) Mendelian Randomization for Studying the Effects of Perturbing Drug Targets. *Wellcome Open Research*, **6**, 16. <https://doi.org/10.12688/wellcomeopenres.16544.1>
- [51] GTEx Consortium (2020) The GTEx Consortium Atlas of Genetic Regulatory Effects across Human Tissues. *Science (New York, N.Y.)*, **369**, 1318-1330.
- [52] Smith, S.M., Douaud, G., Chen, W., Hanayik, T., Alfaro-Almagro, F., Sharp, K., *et al.* (2021) An Expanded Set of Genome-Wide Association Studies of Brain Imaging Phenotypes in UK Biobank. *Nature Neuroscience*, **24**, 737-745. <https://doi.org/10.1038/s41593-021-00826-4>
- [53] Bandres-Ciga, S., Saez-Atienzar, S., Kim, J.J., Makarios, M.B., Faghri, F., Diez-Fairen, M., *et al.* (2020) Large-Scale Pathway Specific Polygenic Risk and Transcriptomic Community Network Analysis Identifies Novel Functional Pathways in Parkinson Disease. *Acta Neuropathologica*, **140**, 341-358. <https://doi.org/10.1007/s00401-020-02181-3>